UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1962-1963 N° 828

LES PNEUMOCONIOSES DES MINEURS DE FER DU BASSIN LORRAIN

Leurs relations avec des infections à Mycobactéries atypiques

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 27 juin 1963
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

CLAUDE MAIREY
Pharmacien

Diplômé d'Études Spéciales de Sérologie
Diplômé du Certificat de Bactériologie Technique et Pharmaceutique
Diplômé d'Études Supérieures de Microbiologie

Examinateurs de la Thèse { MM. R. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Professeur
J. MEYER, Maître de Conférences } Juges

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1963

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG - FACULTÉ DE PHARMACIE

Année scolaire 1962-1963 N° 828

LES PNEUMOCONIOSES DES MINEURS DE FER DU BASSIN LORRAIN

Leurs relations avec des infections à Mycobactéries atypiques

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 27 juin 1963
devant la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention : Pharmacie)

par

CLAUDE MAIREY
Pharmacien

Diplômé d'Études Spéciales de Sérologie
Diplômé du Certificat de Bactériologie Technique et Pharmaceutique
Diplômé d'Études Supérieures de Microbiologie

Examinateurs de la Thèse { MM. R. SARTORY, Professeur, Président
P. CORDIER, Professeur
J. MEYER, Maître de Conférences } Juges

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1963

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

ADMINISTRATION :

MM. GAZET DU CHATELIER, *Doyen*, I. ✪
SCHREIBER, *Assesseur*, I. ✪
CLADY, *Secrétaire*, I. ✪

PROFESSEURS :

MM.	SARTORY, O. ❋, I. ✪, O. ✪	Bactériologie
	CORDIER, ❋, I. ✪	Pharmacie chimique
	DUQUÉNOIS, ❋, I. ✪, ✪	Matière médicale
	JAEGER, I. ✪, ✪	Botanique
	GAZET DU CHATELIER, I, ✪	Pharmacie galénique
	HASSELMANN, I. ✪	Chimie analytique
	SCHREIBER, I. ✪	Chimie organique
	MÉTAIS	Chimie biologique
	LAUSTRIAT	Physique

MAITRES DE CONFÉRENCES

MM.	LEDOUX, ✪, ✪	Sciences naturelles
	MALGRAS	Sciences naturelles
	LAPP	Sciences physico-chimiques
	DIRHEIMER	Sciences appliquées

COURS COMPLÉMENTAIRES :

MM.	SARTORY	Cryptogamie
	CORDIER	Éléments de chimie organique
	DUQUÉNOIS	Hydrologie
	GAZET DU CHATELIER	Pharmacodynamie
	HASSELMANN	Bromatologie
	SCHREIBER	Chimie générale
	LAVIGNE	Législation et Déontologie
	MÉTAIS	Biochimie analyt. et séméiolog.
	LAUSTRIAT	Éléments de mathématiques
	LEDOUX	Technique bactériolique
	MALGRAS	Sérologie et bactériologie
	C. F. LAPP	Chimie minérale
	MEYER	Comptabilité et fiscalité

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES :

Mme	KRISTENSEN	Chimie pharmaceutique
Mme	OURISSON	Histoire naturelle
MM.	MATHIS	Chimie
	STAHL	Bactériologie et Parasitologie
	ROMOND	Bactériologie
	WERMUTH	Chimie
	N	Physique

Au Président du Jury de ma Thèse,

Monsieur R. SARTORY

Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

A mes Juges,

Monsieur P. CORDIER

Professeur de Pharmacie Chimique
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Monsieur J. MEYER

Ancien Maître de Conférences d'Hygiène et de Microbiologie
à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage de sincère reconnaissance.

Au Docteur Pierre BRAUN

Pneumophtisiologue à Briey,

Son concours nous a simplifié notre tâche et nous a permis de mener à bien ce travail. Qu'il reçoive ici l'expression de nos vifs remerciements.

A mes Parents,

à qui je dois plus que je ne saurai dire, faible témoignage de mon affection filiale.

A ma Femme,

A mes Enfants,

A tous ceux qui me sont chers.

INTRODUCTION

La question dominant tous les problèmes *d'immuno-biologie des infections bacillaires* est la suivante : par quel moyen l'organisme parvient-il à mettre en jeu ces processus immunologiques si complexes ?

En ce qui concerne la tuberculose, on a cherché la réponse, dès la découverte du bacille, en étudiant dans quelle mesure les réactions de défense envers ce germe sont identiques à celles que l'organisme met en œuvre dans les autres infections, c'est-à-dire :

— *Mécanismes humoraux* liés à la présence des anticorps sériques;

— *Mécanismes cellulaires* ayant comme substratum l'intervention d'éléments cellulaires doués de propriétés particulières, en rapport avec le pouvoir défensif de l'organisme;

— Enfin, *mécanismes de sensibilisation* (l'hypersensibilité allergique), par lesquels l'organisme sensibilisé réagit, d'une manière toute particulière, au contact des cellules bactériennes ou de produits de celles-ci, agissant comme « *antigènes* ».

On sait depuis longtemps que l'élaboration d'anticorps sériques ne constitue nullement, par elle-même, un processus électif de défense dans le sens finaliste du mot, mais seulement une réponse spécifique envers tout facteur « *antigénique* ». Qui plus est, les anticorps dont l'élaboration est incitée par les cellules bactériennes, n'apparaissent pas toujours dans le sérum à la suite du contact avec le même germe microbien. C'est ainsi que, par exemple, si l'injection de *pneumocoques type* « *S* » chez l'animal est suivie de l'apparition *d'anticorps anti-S* doués de pouvoir protecteur envers l'affection pneumococcique virulente, l'injection des mêmes germes, mais de *type* « *R* » reste sans effet quant à l'apparition de tels anticorps, l'animal restant dépourvu de toute défense envers l'infection. Chez le lapin, en variant la voie d'administration, on peut conférer l'état de résistance à l'aide d'un vaccin préparé avec des *formes* « *S* », sans toutefois constater la présence, dans le sérum de l'animal, d'anticorps spécifiques vis-à-vis des polysaccharides capsulaires, décelables par les techniques sérologiques habituelles. La détection de ceux-ci devient possible seulement par l'adsorption du sérum avec la substance capsulaire respective, suivie de l'incapacité de celui-ci de transférer passivement l'état de résistance. *Dans la sérologie de la tuberculose*, il n'en est nullement ainsi. L'injection de corps bacillaires à l'état vivant provoque l'apparition d'anticorps spécifiques, *que les bacilles aient été virulents ou non*, ainsi que l'installation d'une résistance plus ou moins marquée.

Si les bacilles ont été préalablement tués, les anticorps sont élaborés quand même, mais la résistance fait défaut ou reste minime. De nombreux essais ont montré que de tels sérums, même très riches en anticorps, restent constamment dépourvus de tout pouvoir protecteur, tant pour l'organisme producteur d'origine, que pour celui chez qui on les transfère passivement. Par exemple, Oprescu (1) au cours de ses recherches, a obtenu chez le lapin des sérums très riches en anticorps spécifiques par administration de bacilles vivants virulents ou atténués tels que les B.C.G., soit enfin de tuberculo-protéines.

Étudiant l'action des bacilles tuberculeux virulents sur les monocytes cultivés «*in vitro*» après trypsinisation préalable en *cellules*, Mackaness (2 a), puis Fong et ses collaborateurs (2 b) ont pu constater que les bacilles exercent une action dégénérative nécrosante sur les mononucléaires en culture, qui se manifeste aussi bien sur les cellules immunisées que sur les normales. Si l'on ajoute dans ces cultures de l'immun-sérum, provenant par exemple de lapins vaccinés au B.C.G., l'effet cyto-pathogène des bacilles est neutralisé. *Cet effet inhibiteur de dégénérescence est partiel si les monocytes appartiennent à des animaux vaccinés et devient total si le système comprend des cellules allergiques et de l'immun-sérum.*

L'effet protecteur dépend largement de la continuité d'action de l'immun-sérum sur les monocytes. Il fait défaut en cas de sensibilisation préalable des bacilles avec l'immun-sérum, nécessitant absolument une action continue de celui-ci sur les cellules.

Les recherches de Mackaness, de Fong et ses collaborateurs remettent en cause certaines constatations antérieures, laissant prévoir que l'action de l'immun-sérum n'est pas indifférente. Seibert (3) avait signalé en 1950 que le sérum de lapin sensibilisé par une tuberculo-protéine (P.P.D.S.) ainsi que certaines fractions de protéines bacillaires (A et C) extraites des filtrats de culture possèdent d'une part la propriété d'inhiber la croissance des bacilles et d'autre part d'empêcher la formation de tubercules sur la *membrane chorio-allantoïdienne de l'embryon de poule infecté.*

Lurie (4) avait pu constater la présence d'*agglutinines* dans l'immun-sérum anti-B.C.G. Dubos (5) attribue ce processus d'agglutination à une accumulation importante d'acides organiques, *spécialement d'acides gras à longue chaîne*, résultant de l'action d'une lipase tissulaire responsable de l'inhibition de la croissance bacillaire. Il admet le même mécanisme pour expliquer le processus encore obscur de l'inhibition de la multiplication des bacilles tuberculeux dans les lésions caséifiées.

Les derniers travaux de Raffel et Kochan (6) ont démontré récemment chez les animaux immunisés la présence *d'un facteur sérique tuberculostatique* ayant une action inhibitrice spécifique sur le développement des bacilles tuberculeux. D'après ces auteurs, ce facteur n'est pas un anticorps sérique, car il disparaît du sérum à la suite du contact

avec des suspensions concentrées de germes, il se déplace à l'électrophorèse avec les *α-globulines* et sa genèse n'est pas inhibée par l'irradiation aux rayons X; son activité reste intacte après une heure de chauffage à 56°, mais disparaît lentement à 65°; elle dépend également de la présence des ions Ca^{++}.

L'analyse de toutes ces données montre que la participation des anticorps humoraux dans l'installation de la résistance vis-à-vis de la tuberculose, quoique encore assez discutée, doit être reconsidérée. Il paraît de plus en plus probable que dans la lutte que l'organisme livre contre l'agression bacillaire, *le mécanisme humoral prend une part importante*. L'étendue et l'importance du rôle des anticorps humoraux ne peuvent être, à l'heure actuelle, estimées assez exactement.

C'est pour cette raison que nous avons jugé intéressant d'apporter une contribution à l'étude de ce problème d'immuno-pathologie de la tuberculose; il nous a été donné d'effectuer cette étude sur un matériel humain assez important, provenant *d'une région minière* où d'une part les cas de sidérose, et d'autre part ceux de tuberculose, sont assez fréquents.

Avant d'entrer dans le vif de notre sujet, nous ne voudrions pas manquer d'exprimer notre sincère reconnaissance à Monsieur R. Sartory, *Professeur de Bactériologie et de Cryptogamie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*. Il nous a très aimablement accueilli dans son laboratoire et nous fait aujourd'hui le grand honneur de présider notre jury de Thèse.

Nous remercions également Monsieur P. Cordier, *Professeur de Pharmacie Chimique à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*, pour l'amabilité avec laquelle il a accepté de siéger dans ce jury.

Notre plus vive gratitude est acquise à Monsieur J. Meyer, *Ancien Maître de Conférences d'Hygiène et de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg ;* après avoir été l'instigateur de ce travail, ses conseils et directives nous ont permis de le mener à bien.

Nous n'oublions pas non plus la gentillesse de Monsieur J. Malgras, *Maître de Conférences de Sciences Naturelles à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg*, qui a porté le plus grand intérêt à nos travaux.

Que Monsieur G. Hirtz, *Docteur en Pharmacie*, qui a bien voulu se charger de l'exécution des microphotographies illustrant ce travail, soit assuré ici de notre durable reconnaissance.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550001_0024

PLAN DE TRAVAIL

Notre travail a pour but d'apporter une *contribution à l'étude des pneumoconioses des mineurs de fer du bassin lorrain :* dans ce cadre, il faut envisager les *silicoses* et *sidéroses* pures ainsi que leurs relations avec les infections tuberculeuses vraies ou atypiques.

C'est pour cette raison que nous envisageons dans notre historique les méthodes modernes de détection de *la tuberculose* et les généralités sur *les pneumoconioses* qui peuvent être dues à la poussière de fer contenant ou non de la silice.

Dans la partie ayant trait à nos travaux personnels nous réservons un chapitre à la *géographie et la géologie du bassin de fer lorrain* ainsi qu'aux données étiologiques et aux conditions de travail dans ces mines.

Dans le Chapitre IV nous rapportons *les relations entre les pneumoconioses et la tuberculose.*

Le Chapitre V traite d'un sujet de grande actualité et de conception nouvelle, l'*immuno-pathologie de la silicose et de la sidérose.* Nous étudions ce problème au point de vue des modifications physio-pathologiques et sérologiques. Ces recherches sont effectuées sur des lapins normaux et tuberculeux que nous immunisons au moyen de différents complexes antigéniques contenant de l'oxyde de silice ou de l'oxyde de fer.

Dans le Chapitre VI nous exposons les résultats de nos examens de laboratoire concernant *le diagnostic bactériologique des mycobactéries isolées des expectorations des mineurs de fer de la région de Briey.* Pour réaliser ce diagnostic différentiel, nous avons recours à la méthode de culture de Coletsos et les germes isolés sont caractérisés par des examens cyto-chimiques, enzymologiques et biologiques: pour ces derniers nous avons recours au cobaye. Nous contrôlons « in vivo » la virulence des germes A.A.R. par deux modes d'inoculation : sous-cutanée en suspension aqueuse et intrapéritonéale en suspension huileuse; d'autre part, nous contrôlons *l'état d'allergie* de ces animaux.

Des conclusions générales terminent notre exposé.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE I

LES MÉTHODES MODERNES DE DÉTECTION DE LA TUBERCULOSE

En ce qui concerne le rôle du laboratoire dans *le diagnostic et le pronostic de la tuberculose pulmonaire*, nous nous référons surtout à J. Desbordes (7) et à Le Melletier (8). Dans le cadre de notre travail, nous exposons succinctement les méthodes classiques et bien connues, nous réservant d'insister plus longuement sur les techniques plus récentes, faisant appel plus spécialement à *l'isolement des bacilles tuberculeux et à l'identification de la tuberculose par des réactions d'immunologie.*

La recherche des bacilles tuberculeux dans les crachats:

L'examen direct est un procédé simple, de grande valeur, et l'on doit faire appel à lui en premier lieu.

L'homogénéisation prônée comme plus sensible, est plus laborieuse et elle comporte assez souvent des causes d'erreur.

Dans tous les cas où ces deux procédés restent négatifs, ou bien si l'on a une raison valable de suspecter leur réponse, il faut recourir à la *culture* et à *l'inoculation.*

La culture est plus simple et moins coûteuse; elle est souvent préférée à l'heure actuelle, mais *l'inoculation* reste en générale plus sensible et surtout plus spécifique. Dans les cas où l'on désire le maximum de précision, il est préférable, comme le dit Galimard (9), de les effectuer simultanément. Lorsqu'on soupçonne le diagnostic de tuberculose pulmonaire évolutive, les examens utiles à la mise en évidence du bacille doivent être pratiqués avant toute thérapeutique. En cas d'urgence, un traitement antibiotique ne doit être entrepris qu'après mise en train des cultures et de l'inoculation. On évitera ainsi bien des erreurs de diagnostic. Réciproquement, le diagnostic de lésions tuberculeuses ne peut être infirmé, ou la guérison présumée, en l'absence d'un contrôle bactériologique tout aussi strict.

Sans doute la bactériologie compte-t-elle quelques défaillances. Il reste quelquefois impossible de mettre en évidence le bacille dans les sécrétions d'un malade porteur d'une lésion radiologiquement évolutive accompagnée d'une vitesse de sédimentation élevée qui fera plus tard la preuve de sa nature tuberculeuse. Mais ceci n'est pas la règle générale. De toute façon, un résultat positif possède une valeur presque absolue. Il faut cependant tenir compte de deux causes d'erreur :

— La plus importante est la *contamination des préparations* par des bacilles, habituellement morts, qui proviennent du récipient où les crachats ont été recueillis, de la lame sur laquelle on les a étalés, de l'huile de cèdre ou du papier-filtre employé.

— La seconde erreur est due au *bacille paratuberculeux ;* mais celui-ci est exceptionnel dans les crachats, alors qu'il peut être plus facilement apporté par les manipulations du laboratoire ou le matériel employé.

C'est pourquoi il ne faut accepter une *homogénéisation positive isolée* que sous réserve du contexte radio-clinique et si besoin est, par sa vérification au moyen de la culture ou de l'inoculation.

La culture :

Le principal inconvénient des cultures est la longueur du délai demandé pour la réponse. On a essayé de raccourcir celui-ci en recherchant au microscope la présence de *microcultures* dans le produit de râclage des cultures, où l'on peut quelquefois les mettre en évidence dès le 7e ou le 8e jour. Il ne faut pas oublier que c'est par cette méthode que Loewenstein avait cru mettre en évidence la bacillémie dans de nombreuses affections où elle n'a pas été confirmée. Seuls doivent être pris en considération *les amas de bacilles disposés côte à côte sur plusieurs rangées d'épaisseur, en ruban ou en moustaches*, et non pas les germes isolés (« *Cord-factor* » de B. Bloch). Ceux-ci, en effet, peuvent être simplement les cadavres de bacilles acido-résistants provenant du milieu et notamment des œufs. Encore, les aspects caractéristiques ne sont-ils guère observés que dans les produits suffisamment riches et doivent-ils toujours être confirmés par l'apparition ultérieure de colonies typiques.

D'autres techniques permettant d'obtenir une culture plus rapide ont été récemment proposées, dont quatre au moins doivent être connues.

Dubos et Davis (10) ont mis au point plusieurs milieux synthétiques liquides, dont l'originalité réside dans l'adjonction à un milieu synthétique de deux éléments : le premier est un mouillant, *le Tween 80*, le second est une fraction de la sérine-albumine de bœuf (*fraction V*) neutralisant les acides gras produits par l'hydrolyse du Tween et favorisant le développement du bacille.

Youmans (11) utilise un milieu liquide composé d'une solution nutritive additionnée de 10 % de plasma humain déshydraté.

Le troisième procédé mis au point par PRYCE est préconisé en France par BERNARD et KREIS (12) : il s'agit d'une méthode de *culture sur lame*, sur laquelle on étale le produit pathologique. On dispose à l'étuve et les colonies deviennent perceptibles au bout d'un à cinq jours.

Ces méthodes présentent un grand intérêt, la culture sur lame est probablement une technique d'avenir. Elles se heurtent pourtant à deux écueils, comme LE MELLETIER le fait ressortir : *elles sont plus sensibles aux contaminations* que les cultures classiques, *elles sont moins fidèles* pour les prélèvements pauvres en bacilles. Aussi cèdent-elles actuellement encore le pas au *milieu de Loewenstein-Jensen* dans la pratique courante du laboratoire.

D'autre part, la culture classique permet l'étude souvent indispensable de la résistance des germes aux antibiotiques, ainsi que le diagnostic différentiel entre les *bacilles tuberculeux pathogènes vrais et les bactéries paratuberculeuses.*

La quatrième des techniques modernes est due à COLETSOS (13) ; elle est principalement destinée au titrage direct de la résistance du bacille tuberculeux contenu dans les expectorations et autres prélèvements pathologiques.

En ce qui concerne les crachats, les liquides pleuraux et les pus, on doit les utiliser tels quels. On met 2 ml de crachat dans un mortier stérile, on procède à l'homogénéisation en ajoutant 2, 4 ou 6 ml, suivant la consistance du crachat, d'une dilution stérile de soude à 4 %. On enveloppe le mortier dans un papier résistant et on dispose une ou deux heures à l'étuve à 37°-38°. On ajoute alors une goutte d'une solution aqueuse stérile de tournesol à 3 %. On neutralise ensuite avec de l'acide sulfurique à 4 %, introduit goutte à goutte jusqu'au virage vers la teinte lilas du mélange crachat + soude initialement coloré en bleu. Cette manipulation est délicate et on ne doit pas dépasser *le point de neutralité :* en effet une réaction trop acide provoque un précipité nuisible à la bonne répartition des bacilles dans l'ensemble du produit. On utilise le produit ainsi neutralisé pour l'ensemencement des tubes contenant les antibiotiques spécifiques que l'on trouve à *l'Institut Pasteur.*

On introduit à l'aide d'une pipette de Pasteur stérile 20 gouttes (environ 1 ml) dans chaque tube de la gamme de l'antibiotique en étude et dans le tube témoin démuni d'antibiotique.

Il importe de mettre rigoureusement le même volume ou le même nombre de gouttes avec la même pipette dans la série de tubes. On étale ensuite le prélèvement ainsi préparé sur toute la surface du milieu ; les tubes sont fermés par un bouchon de coton et un capuchon de caoutchouc et disposés horizontalement à l'étuve à 37°,5-38°.

La lecture macroscopique peut s'effectuer à partir du 15e jour, parfois avant, par l'apparition de fines colonies bacillaires dont l'aspect punctiforme et brillant contraste avec le fond bleu du milieu imprégné

de tournesol. Cependant, le temps optimal pour la lecture macroscopique est situé entre la 3e et la 4e semaine de culture. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette technique dans la partie expérimentale de ce travail.

L'inoculation à l'animal :

L'inoculation à l'animal est devenue la méthode de laboratoire la plus sensible pour poser *le diagnostic de la tuberculose*. L'animal de choix est le cobaye. Après inoculation sous-cutanée, d'habitude dans la région inguinale, d'un produit suffisamment riche en B.K., on voit apparaître chez le cobaye une inflammation locale avec œdème au siège de l'injection et qui se manifeste après une dizaine de jours. Puis il se forme un nodule, les ganglions satellites augmentent de volume et deviennent durs. Vers le 20e jour, le nodule local s'ulcère, il se forme un *chancre d'inoculation*. A ce moment l'animal commence à maigrir, puis, tardivement, il devient fébrile et meurt après 8 à 12 semaines. A l'autopsie, on constate de grosses adénopathies caséeuses des ganglions inguinaux, sous-lombaires et trachéo-bronchiques. D'autre part, on note une volumineuse hypertrophie de la rate qui est couverte de tubercules, des lésions analogues du foie et plus discrètes ou exceptionnelles des poumons. Dans tous ces organes l'examen microscopique montre des bacilles acido-alcoolo-résistants en plus ou moins grand nombre.

Les réactions cutanées à la tuberculine :

Ces réactions sont :

— la *cutiréaction ;*
— l'*intradermoréaction ;*
— la *percutiréaction ;*
— le *timbre tuberculinique.*

En pratique, une *cutiréaction positive* signifie que le sujet a été infecté par le bacille tuberculeux, qui a déterminé dans son organisme une lésion patente ou latente.

Une *cutiréaction négative* doit être vérifiée par une intradermoréaction, toutes les fois au moins que l'on soupçonne la possibilité d'une contamination d'après les données de la clinique ou l'anamnèse. Dans ce dernier cas, l'exploration tuberculinique doit être périodiquement répétée pendant les trois ou quatre mois qui suivent, pour éviter l'erreur due à la phase anté-allergique. Celle-ci écartée, l'absence d'allergie cutanée peut avoir les significations suivantes :

— *Le sujet a échappé à la contamination ;* c'est le cas habituel.
— *Il s'est montré insensible à celle-ci*, en raison d'une résistance particulièrement solide ; c'est généralement une hypothèse incontrôlable.

— *C'est un ancien allergique* redevenu négatif après stérilisation bactériologique d'une lésion tuberculeuse guérie.

— *C'est rarement un tuberculeux évolutif* à lésions très étendues ou de type miliaire.

La négativation des réactions tuberculiniques peut également être le fait d'une maladie anergisante. Le fait est évident s'il s'agit d'une infection aiguë. Dans les réticulo-endothélioses, il présente une certaine valeur pour le diagnostic de formes ganglionnaires, mais peut être trompeur pour celui des miliaires.

Modifications humorales non spécifiques :

Les réactions les plus couramment utilisées pour contrôler ces modifications sont : *la vitesse de sédimentation, la réaction de Vernes-résorcine et le dosage de l'haptoglobinémie.*

Dans la plupart des laboratoires, on emploie le procédé de *Westergreen*, dans lequel *la vitesse de sédimentation normale* n'excède pas le chiffre de 8 (hommes) et 12 (femmes) mm pour la première heure, et de 16 à 20 mm pour la deuxième heure. Brouet et Marche, dans un exposé des *Entretiens de Bichat* de 1958, font des réserves et jugent la vitesse de sédimentation inconstante et sans spécificité en ce qui concerne la tuberculose.

On sait que la *réaction de Vernes à la résorcine* est basée sur l'appréciation photométrique de la floculation du sérum en présence de résorcine. Un indice inférieur à 15° est normal, un chiffre supérieur à 30° permet en principe de conclure à une tuberculose active. Entre 15° et 30°, le résultat est douteux.

Le *dosage de l'haptoglobine* est beaucoup plus précis. Normalement, l'indice est inférieur à 1,3 ; il est à considérer comme nettement pathologique et spécifique au-dessus de 1,8.

Électrophorèse des protides :

Les faits essentiels observés en ce qui concerne notre sujet sont les suivants :

La *diminution des albumines* est en rapport direct avec l'atteinte de l'état général et l'étendue des lésions. *L'augmentation* des α_1- et α_2-*globulines*, qui se manifeste électivement dans le glucidogramme, est d'autant plus marquée que les lésions sont plus étendues surtout lorsqu'elles sont excavées ou exsudatives. Les β-*globulines* subissent une légère augmentation, qui ne paraît pas très significative : leur composante lipoprotéique est cependant spécialement augmentée dans les formes productives. *L'augmentation des* γ-*globulines* est plus importante

dans les formes jeunes et fébriles; elle apparaît aussi en rapport avec l'étendue des lésions.

L'hémogramme:

La formule sanguine des tuberculeux pulmonaires est assez variable, suivant la forme et le moment de la maladie. De plus, elle est souvent modifiée par la thérapeutique.

En dehors des grandes hémoptisies, la formule rouge est le plus souvent normale ou montre une anémie modérée, normochrome ou hypochrome. La *polyglobulie*, quelquefois observée, est habituellement secondaire à une insuffisance respiratoire accentuée. Elle est exceptionnellement due à une *tuberculose splénique.*

Les modifications de l'image blanche, plus importantes, ont été très étudiées. *L'hyperleucocytose avec polynucléose* est habituelle dans les fontes caséeuses importantes. Son pronostic est mauvais. Dans les autres formes, la leucocytose est habituellement normale ou légèrement augmentée. La formule leucocytaire est intéressante à considérer, parce qu'elle est influencée par l'évolution anatomique des lésions. Schématiquement, on peut admettre : La *polynucléose* accompagne la fonte des lésions caséeuses. La *monocytose* témoigne de l'activité histiocytaire qui préside à l'édification des follicules tuberculeux. La *lymphocytose* accompagne le développement de la sclérose. Ces modifications sont pourtant trop importantes pour présenter une grande valeur diagnostique. La *déviation vers la gauche de la formule d'Arneth* où l'augmentation relative du nombre des polynucléaires à noyaux non segmentés avait autrefois un très grand intérêt, qui s'est amoindri par les moyens d'investigation plus précis employés actuellement.

L'examen hématologique tire son principal intérêt de ses modifications au cours d'autres affections pulmonaires : *éosinophilie* du syndrome de Loeffler, des parasitoses et de la maladie de Hodgkin ; *leucocytose avec polynucléose* des suppurations et de la pneumonie; *leucocytose avec lymphocytose* de la coqueluche et de la mononucléose infectieuse.

Il faut cependant noter que les tuberculoses caséeuses aiguës s'accompagnent quelquefois d'une polynucléose aussi importante que les suppurations pulmonaires. D'autre part, il ne faut pas oublier *la fréquence de l'éosinophilie chez les malades soignés par la Streptomycine ou le P.A.S.*

Le granulo-diagnostic de BENDA et URQUIA:

Sur une lame de sang colorée au *May-Grünwald+Giemsa*, les polynucléaires neutrophiles se répartissent en trois types d'après l'aspect de leurs granulations :

— *Type normal :* granulations en fine poussière, protoplasme transparent.

— *Type franchement pathologique :* granulations plus nombreuses, plus grosses, inégales et souvent en amas.

— *Type intermédiaire :* granulations très nombreuses, mais non hypertrophiées ni conglomérées, le protoplasme est brouillé.

Un granulogramme normal comporte 80 à 100 % de neutrophiles à granulation normale, 0 à 5 % à granulation plus grosse et inégale. Pour les auteurs, un granulogramme normal exclut le diagnostic de tuberculose. Un granulogramme franchement pathologique constitue une présomption très sérieuse de tuberculose.

Une formule de type intermédiaire correspond soit à une primo-infection, soit à une tuberculose ancienne atténuée ou guérie.

Les tests de virulence :

Ces tests sont en général basés sur l'étude de la fixation des colorants basiques, qui constituent des indicateurs de pH. Les plus connus sont : le test de Desbordes et Fournier au *bleu de Nil*, celui de Dubos au *rouge neutre* et celui de Wilson et Hauduroy au *bleu d'indophénol*. Nous aurons l'occasion de revenir plus en détail sur ces techniques au cours de nos travaux personnels.

L'ensemble des méthodes d'investigations que nous avons énumérées, nous a servi de base dans nos recherches expérimentales.

CHAPITRE II

GÉNÉRALITÉS SUR LES PNEUMOCONIOSES

Dans un travail datant de 1958 Dechoux (14) fait ressortir les données essentielles sur les enquêtes pulmonaires systématiques concernant les *mineurs de fer du Bassin lorrain*. Radiologiquement ces *pneumoconioses* sont caractérisées par la finesse particulière des opacités élémentaires, l'absence de rétraction et le siège fréquemment unilatéral et apical des opacités étendues. Il existe certes des différences régionales, d'après cet auteur, dues aux conditions géologiques des gisements et aussi aux méthodes d'exploitation qui font que les anomalies pulmonaires s'approchent plus ou moins du tableau de la *silicose classique*. Nous aurons l'occasion de revenir sur le rôle du fer et des poussières siliceuses dans la pathogénie de ces maladies.

En principe, cependant, la plupart des auteurs différencient entre *pneumoconioses siliceuses et ferrugineuses*. La nature biochimique de ces lésions de pneumoconiose dépend largement du progrès analytique dans l'étude des différents produits biologiques. Quoi qu'il en soit, il est certain que les lésions expérimentales chez l'animal sont comparables à celles de l'homme, mais pas toujours identiques à elles. Les travaux les plus importants, au point de vue de l'immuno-pathologie des nodules de silicose, ont été effectués par Vigliani et Pernis (15).

Au point de vue chimique, le nodule proprement dit présente une *constitution protéique* et renferme peu de glycoprotéides. Les analyses électrophorétiques ont montré que ces nodules sont constitués presque essentiellement par des globulines. Après hydrolyse, l'examen montre la présence *d'acides aminés* rappelant la composition des globulines sériques; mais l'analyse chimique est incapable de déterminer exactement la structure d'une protéine dans l'état actuel de nos connaissances.

Pernis *et ses collaborateurs* (16) ont essayé d'arriver à une certaine caractérisation des produits homogénéisés de nodules de silicose, en employant l'immuno-électrophorèse de Crabar et Williams (17). Ils ont eu recours à *un immun-sérum de cheval à propriétés précipitantes* : ils ont ainsi pu mettre en évidence que cette matière nodulaire est presque essentiellement constituée de γ-globulines. D'après ces auteurs, on pourrait donc considérer les nodules de pneumoconioses *comme un véritable dépôt d'anticorps*. Pernis et ses collaborateurs ont également effectué la contre-épreuve, en mettant en évidence dans les nodules

homogénéisés l'existence d'*anticorps spécifiques* contre les γ-globulines humaines. Les examens sérologiques ont été effectués au moyen *du test de Coombs.*

La nature histologique de ces nodules a été étudiée avec une grande précision. Ces recherches ont été effectuées en Italie par Mottura et Levis (18), au Japon par Ishinishi et Miyazaki (19) et en France par Policard et Collet (20). Tous ces auteurs sont d'accord pour affirmer que l'on trouve dans les nodules primitifs un enrichissement de *cellules plasmocytaires*, qui sont actuellement reconnues comme lieu de formation des anticorps. Les méthodes histiochimiques *(ribonucléase)* et l'examen au *microscope électronique* ont donné les mêmes résultats. Il faut mentionner, de plus, qu'il était expérimentalement possible d'*inhiber la formation des lésions de pneumoconiose par traitement à la Cortisone.* Il semble donc, d'après l'ensemble de ces expériences, que ces nodules de pneumoconiose doivent être considérés comme un dépôt d'anticorps, ce qui renforce encore le point de vue des biochimistes et immunopathologistes.

Pendant très longtemps, il a été impossible de mettre en évidence des *anticorps spécifiques chez l'homme atteint de silicose ou de sidérose.* Claeys (21) a pu montrer, en 1953, que le sérum de sujets exposés aux poussières présentait une augmentation temporaire de la viscosité si l'on y suspend de la poudre de quartz. Il n'était cependant pas possible de rapporter ce phénomène à l'existence d'anticorps, bien que Loiseleur (22) ait employé le terme d'anticorps dans des processus analogues réalisés avec des molécules relativement réduites.

Cependant, Ishinishi et ses collaborateurs ont pu mettre en évidence chez l'homme *des anticorps agglutinants spécifiques.* Ils ont employé la technique mise au point sur le lapin et pouvaient ainsi donner des résultats quantitatifs. Ces auteurs ont pu provoquer la genèse *d'anticorps spécifiques contre des acides siliciques cristallins* chez le lapin. Ils leur a été impossible de réaliser le même phénomène par injection *d'acide silicique* cristallisé, alors qu'avec du quartz la réaction fut positive. On peut s'expliquer ce phénomène par l'adsorption de protéines sériques homologues à la surface du quartz. Ces anticorps ne réagissent qu'avec un antigène formé par du quartz ayant préalablement adsorbé ces protéines. Il s'agit *d'agglutinines* qui peuvent être décelées microscopiquement, si l'on emploie comme antigène des corpuscules de quartz n'atteignant pas 1 μ de diamètre. *Les auteurs japonais* ont ainsi déterminé des taux d'agglutination jusqu'à 1/512 et plus.

Antweiler et Hirtsch (23) ont également pu mettre en évidence ces anticorps, mais doutent de leur spécificité et pensent avoir affaire à des anticorps de groupe qui peuvent réagir avec tous les complexes d'acide silicique et de protéines. A la suite de ces expériences, Vigliani propose de considérer *la pneumoconiose* sur la base d'une *hypothèse immunologique :* Les nodules silicosiques seraient un *dépôt d'anticorps enveloppant un antigène adsorbé sur le quartz.* Cette théorie se rapproche

de beaucoup de celle considérant *la pneumoconiose comme un phénomène d'allergie*, en se basant sur l'éosinophilie de ces maladies, ce qui confirmerait son caractère immunopathologique.

Claeys et Quinot (24) affirment que cette théorie tient compte des principes immunologiques expliquant la pneumoconiose. D'autre part, cette conception serait justifiée par les processus cliniques de cette maladie. *Ceux-ci semblent relier la silicose à d'autres maladies à caractère immunopathologique semblable.*

Dans les formes aiguës de la pneumoconiose typique, on a indubitablement pu mettre en évidence des modifications typiques des protéines plasmatiques et sériques. On note une augmentation des *γ-globulines périphériques*, démontrée par électrophorèse et par les tests de Boselli (25). On sait que ces modifications sont le témoin de l'augmentation des anticorps humoraux. D'autre part, les réactions dans le liquide céphalo-rachidien et la moelle osseuse sont du même type dans la silicose. On note en effet une nette réaction histiomonocytaire, indice de la genèse des anticorps. A ce sujet, on a comparé les phénomènes *de la pneumoconiose avec ceux des polyarthrites primaires chroniques*, sachant que cette dernière maladie est sûrement d'origine immunologique, et l'on a pu constater une analogie des réactions dans les deux cas. Les auteurs ont également examiné les rapports entre les réactions immunologiques et la réponse de l'organisme à l'introduction de produits silicotiques. Ces essais ont été pratiqués sur un grand nombre de mineurs exposés à un dégagement de poussière assez réduit et de toute façon nettement moindre à celui que l'on trouve dans les chantiers souterrains. Cela n'a pas empêché l'atteinte d'un certain nombre de travailleurs par *une pneumoconiose* à évolution rapide, alors que d'un autre côté on devait constater l'absence totale *de pneumoconiose* chez un nombre relativement moins important d'ouvriers exposés depuis trente ans environ à un dégagement de poussière similaire.

Dans le premier groupe de mineurs on a pu mettre en évidence des réactions biochimiques se caractérisant surtout par une *modification du protéinogramme avec augmentation des γ-globulines* et par un taux élevé du cuivre sérique.

Le second groupe, par contre, se caractérisait par un *taux d'agglutinines abaissé* contre les antigènes des groupes sanguins. Les auteurs admettent que ces agglutinines sont des anticorps spéciaux qui se rapprochent quantitativement de *l'alexine* et de la *properdine*. Ils concluent par conséquent que les sujets silicosorésistants se comportent comme des individus, peu nombreux d'ailleurs, incapables de produire des anticorps ou de s'en servir.

L'ensemble de ces données plaide donc en faveur de la théorie selon laquelle la genèse *des nodules de pneumoconiose* est due à une réaction vis-à-vis du quartz chargé de protéines idiogènes; ce complexe antigénique engendre alors les anticorps et contribue à former les nodules.

Cette explication théorique actuelle *des pneumoconioses* nécessite

encore des essais expérimentaux qui devraient tendre à démontrer le rôle des anticorps humoraux mis en évidence chez l'homme et les animaux: *sont-ils les agents des lésions de pneumoconiose et quelle est leur nature ?*

Quoi qu'il en soit, il est prouvé que les anticorps sériques de l'homme sont toujours spécifiques pour le complexe antigénique *protéines + quartz*. Chez les animaux, on a préparé ce complexe spécialement et les réactions immunologiques apparaissent très rapidement. Chez l'homme ces réactions n'ont pu être observées — surtout par Claeys et Quinot — qu'au bout d'un certain temps de latence, ce qui pourrait s'expliquer par le temps nécessaire au phénomène d'adsorption entre les produits cristallins et les composants protéiques du sérum.

Nos travaux personnels ont trait à l'étude de ces processus d'immunopathologie. Avant de les exposer, nous voudrions tenter d'établir les relations pouvant exister entre *les silicoses et les sidéroses.*

En nous référant au travail de Dechoux (26), nous pouvons distinguer différentes catégories de *pneumoconioses sidérurgiques*. Zenker a décrit en 1866 le premier état des poumons consécutif à l'inhalation de grandes quantités d'*oxyde de fer* et a proposé le terme de « *sidérose* » pour qualifier cette affection. Les poumons avaient une teinte rouge intense et contenaient chez l'un des sujets de Zenker 22 g d'oxyde de fer. De nombreux auteurs ont essayé, depuis, de préciser comment réagissaient les poumons lorsque des poussières de fer pures ou combinées à de la silice étaient inhalées.

Les pneumoconioses dues aux poussières de fer ne contenant pas de silice:

Ces affections atteignent particulièrement les soudeurs à l'arc électrique. Le travail de ces ouvriers consiste à faire jaillir un arc électrique entre la pièce à souder et une électrode. Pour des raisons techniques, cette électrode est constituée par du fer doux, parfois enrobé de substance telle que silicate ou amiante. L'ouvrier est exposé sans protection aux fumées importantes qui se dégagent au niveau de l'électrode. D'après Britton et Walsh (27) ces fumées sont composées dans une proportion de 99 % de fines particules de fer, dont le diamètre moyen est inférieur à 0,5 μ. Il se dégage également des gaz nitreux qui, cependant, n'interviendraient pas dans la pathogénie des troubles bronchopulmonaires.

Après une exposition de durée variable, pouvant être inférieure à 10 ans si le travail se fait en atmosphère confinée (soudure dans des cuves), on note à la radiographie une accentuation du dessin de la trame pulmonaire et des arborisations broncho-vasculaires réalisant un aspect réticulé. Sur ce fond apparaissent, à un stade plus avancé, de fines opacités nodulaires simulant une miliaire. Cet aspect peut prêter à confusion avec la silicose au début. Cependant, on n'observe jamais une

évolution vers les formes avec opacité nodulaire confluente et masses pseudo-tumorales. Doig et Mc Laughlin (28) ont rapporté deux observations de soudeurs où les images miliaires, après l'interruption du travail, ont complètement disparu dans un cas et nettement régressé dans l'autre.

Les *complications tuberculeuses évolutives* habituelles dans la silicose ont fait complètement défaut dans les observations de ces auteurs. Sander (29) a, par contre, vu des *lésions tuberculeuses excavées* chez un soudeur, qui se sont cicatrisées spontanément sans que l'ouvrier arrêtât son travail.

En ce qui concerne les *troubles fonctionnels*, la plupart des auteurs ne mentionnent qu'une simple toux matinale et une expectoration discrète. Britton et Walsh, et surtout Koelsch (30) signalent la fréquence de la bronchite, mais tous ces auteurs se plaisent à affirmer que ces troubles sont bénins et n'empêchent nullement la continuation du travail. Koelsch insiste cependant sur l'installation d'une bronchite chronique et de l'emphysème avec une dyspnée accusée, surtout à l'effort. Pozzi (31) insiste sur une évolution progressive des symptômes pathologiques avec des complications pulmonaires de plus en plus fréquentes, évoluant vers l'hypertrophie du ventricule droit et souvent vers la tuberculose terminale. Enzer et Sander (32) ont fait une étude anatomo-pathologique chez un soudeur : ils notent un dépôt abondant de pigments localisé autour des vaisseaux et des bronchioles, pas de réaction fibreuse, pas de constriction vasculaire, mais de l'emphysème. Le dosage de la silice révélait un taux strictement normal et, après micro-incinération, le résidu ne contenait pas de particules de quartz. *Une réaction positive au bleu de Prusse* caractérisait typiquement la présence d'oxyde de fer.

Des images semblables s'observent chez les polisseurs d'argenterie se servant d'oxyde de fer comme abrasif.

Les pneumoconioses dues aux poussières de fer contenant de la silice :

Des auteurs, *américains* pour la plupart, rapportent des observations *de pneumoconioses* chez les fondeurs. Contrairement aux sableurs, burineurs, maçons-fumistes, qui font une silicose grave, les fondeurs présentent après 10 ans de travail, de fines images réticulo-nodulaires à l'examen radiographique. Aucun trouble fonctionnel n'est observé : les surinfections tuberculeuses se cicatrisent généralement bien, souvent même sans que l'ouvrier interrompe son travail. Les poussières inhalées par les fondeurs sont surtout composées de fer (60 à 61 %) et de faibles quantités de silice (en moyen 6 à 6,5 %). Se basant sur l'absence de troubles fonctionnels et de toute tendance à la confluence des images radiologiques, sur le manque de complications par *la tuberculose évolutive* et sur les résultats expérimentaux, *les auteurs américains concluent que cette pneumoconiose n'est pas une silicose, mais une sidérose.*

Vigliani signale, lui aussi, le caractère bénin de *la pneumoconiose des ouvriers fondeurs*. Il a cependant observé des opacités nodulaires confluentes et il faut admettre que la teneur en silice des poussières incriminées était probablement supérieure.

Une autre pneumoconiose due à *une association de fer et de silice* a été décrite chez les *travailleurs de l'ocre*. Ehrhardt et Guthert (33) rapportent 12 observations de pneumoconioses dues à l'ocre. Les analyses pratiquées sur différents échantillons d'ocre manipulés par ces ouvriers montraient la composition suivante :

Oxyde de fer	13 à 56 %
Silice totale	21,82 à 66,85 %
Quartz	12,78 à 43,59 %

Chez ces ouvriers apparaissent, après une durée de travail en général supérieure à 20 ans, des images radiologiques en tête d'épingle uniformément réparties dans les deux champs pulmonaires, moins abondantes cependant au sommet. Ces opacités augmentent en taille et en nombre pour former des éléments nodulaires plus importants. Les troubles fonctionnels sont inexistants au début, mais apparaissent au stade nodulaire. *Dans aucun cas*, les auteurs n'ont pu déceler *de lésions tuberculeuses*. Ils ont également effectué des recherches expérimentales *par inhalation d'ocre par des lapins ;* dans aucun cas il ne s'est formé de lésion fibreuse; selon les auteurs, l'expérimentation n'a pas provoqué la formation de nodules silicotiques parce que le lapin est un mauvais terrain. Ils concluent que la pneumoconiose des travailleurs de l'ocre est une silicose différente du schéma classique par la lenteur particulière de son évolution. *Ce phénomène serait dû au fer qui, d'une part, stimule la phagocytose des particules de silice et qui, d'autre part, forme une enveloppe protectrice, empêchant pendant longtemps le contact entre la silice et les tissus et protéines sériques.*

Dans la même catégorie *de pneumoconioses on peut ranger l'affection des mineurs de fer*. Celle-ci a été surtout étudiée dans le *West-Cumberland* chez les mineurs *d'hématite*. A la radiographie, on note des images nodulaires plus fines et plus diffuses que dans la silicose classique. L'examen histologique révèle une fibrose diffuse, discrète, à distribution surtout périvasculaire et péribronchique, contenant une grande quantité de pigments phagocytés, donnant une réaction positive au bleu de Prusse. La plupart des cas montrent également des zones de fibrose totale, qui se révèle de *nature collagène* et est parfois disposée en spirale. Sur 17 cas, ils ont détecté 10 tuberculoses. *Le minerai de fer du Cumberland* contient 12 à 13 % d'acide silicique et les auteurs en concluent qu'il s'agit dans ces cas de silicoses.

Hard et Aslett (34) ont pu examiner 78 cas chez *des mineurs de charbon des Galles du Sud ;* ils notent la présence de nodules collagènes se rapprochant du type classique de la silicose, mais qui coexistent constamment avec des lésions tuberculeuses. Le rôle de la tuberculose

paraît surtout net dans les observations avec fibrose massive. Les auteurs concluent : « *La tuberculose est un facteur évident et dans les cas de fibrose massive sans tuberculose évidente, on trouve souvent des signes indiscutables de tuberculose ancienne et traînante.* »

Bruce (35) rapporte que Podkaminsky, en 1932, au cours d'une enquête portant sur 140 mineurs de fer russes, a observé des lésions silicotiques toutes peu évoluées. Naeslund (36) a effectué des recherches expérimentales au moyen *de minerai de fer de Suède ;* celui-ci contient environ 5 % d'acide silicique et produit une pneumoconiose assez marquée par des dépôts de poussière sans production de lésions silicotiques. Comme cet auteur a travaillé avec des lapins, il estime lui-même qu'il est impossible d'appliquer ses résultats à l'homme.

Dans les mines de fer du Siegerland en Allemagne, Wigand (37) a observé en 1938, parmi un groupe de 327 mineurs, 96 cas de silicose du stade 1 et un cas du stade 2. Cette pneumoconiose est caractérisée par un pointillé très fin et de petites images nodulaires. Les masses pseudo-tumorales sont l'exception, mais une fois apparues, elle ne présentent qu'une faible tendance rétractile. Pour *les auteurs allemands*, il s'agit bien d'une silicose et non pas d'une sidérose. Le fer inhalé en même temps que la silice ne fait que modifier l'aspect de cette silicose.

La revue de ces différents travaux concernant l'action sur les poumons des poussières contenant du fer permet de faire les remarques suivantes :

Les poussières contenant du fer, à l'exclusion d'impuretés siliceuses, peuvent indiscutablement provoquer une *pneumoconiose caractérisée radiologiquement par des opacités miliaires :* tel est le cas de la pneumoconiose des soudeurs à l'arc et des polisseurs d'argenterie. L'aspect histologique est identique à celui des anthracoses et des pneumoconioses à poussières biologiquement inertes en général. Comme dans toutes ces pneumoconioses, des lésions d'emphysème périfocales peuvent se former et entraîner des troubles fonctionnels plus importants.

Dès que des particules siliceuses se trouvent mélangées aux poussières de fer, c'est notamment le cas pour le minerai de fer, les opinions sur la nature de la pneumoconiose deviennent divergentes: *les auteurs allemands et suédois* ont tendance à imputer à la silice le rôle principal dans la genèse de la pneumoconiose, *les auteurs britanniques* dans leur ensemble, pensent que c'est le fer qui intervient essentiellement dans la formation de cette affection. Les conditions minéralogiques différentes d'un bassin à l'autre n'expliquent pas entièrement ces divergences.

Ces différences entre les interprétations pathogéniques sont, d'après Dechoux, d'autant plus surprenantes que les observations rapportées présentent dans tous les cas des analogies frappantes :

— *Les images radiologiques sont particulièrement fines.*

— *Les lésions étendues pseudo-tumorales sont plutôt rares* et en tous cas peu rétractiles.

— *La tuberculose semble prendre un aspect particulier* et explique certaines lésions de fibrose massive, tout comme chez les mineurs de charbon *du Pays de Galles.*

Ces contradictions mêmes démontrent l'importance de ce problème, auquel nos travaux personnels essaieront d'apporter une contribution utile.

DEUXIÈME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE III

GÉOGRAPHIE ET GÉOLOGIE DU BASSIN DE FER LORRAIN

Le *bassin de fer lorrain* s'étend en direction Nord-Sud de la frontière belge jusqu'à Nancy sur une distance d'une centaine de kilomètres. Le gisement qui affleure légèrement à l'Ouest de la Moselle s'enfonce lentement vers l'Ouest selon une pente moyenne de 1°. La limite Ouest n'est autre que celle de l'exploitabilité des couches, la formation se prolonge en effet au delà. Au total, la surface exploitable est d'environ 1 000 km².

Plusieurs grandes failles dirigées NE-SO divisent l'ensemble du bassin en bassins secondaires, du Nord au Sud : *bassin de Longwy*, *bassin d'Ottange-Landres*, *bassin de l'Orne et bassin annexe d'Ars*, *bassin de Nancy*.

Nous donnons ci-contre une carte géographique du bassin minier lorrain, les caractéristiques géologiques et minéralogiques étant précisées plus loin.

Historique de l'étude de la silicose et de la sidérose dans le bassin lorrain:

Les mines de fer de Lorraine ont fait l'objet de plusieurs travaux. Heim de Balsac et Feil (38) ont pratiqué en 1934 des radiographies pulmonaires chez 66 vieux mineurs de deux mines du bassin. Parmi ceux-ci, 28 étaient suspects de pneumoconiose, 4 autres présentaient des images « *qu'on peut rattacher indifféremment aux poussières ou à la tuberculose incipiens* ». Les images pneumoconiotiques observées affectaient trois aspects : granité, lenticulaire et pommelé. La discrétion des troubles fonctionnels et généraux contrastait avec l'aspect radiologique. Pour les auteurs, la silice jouerait un rôle minime dans la genèse de cette pneumoconiose : il s'agirait plutôt d'une *sidérose*, maladie bénigne

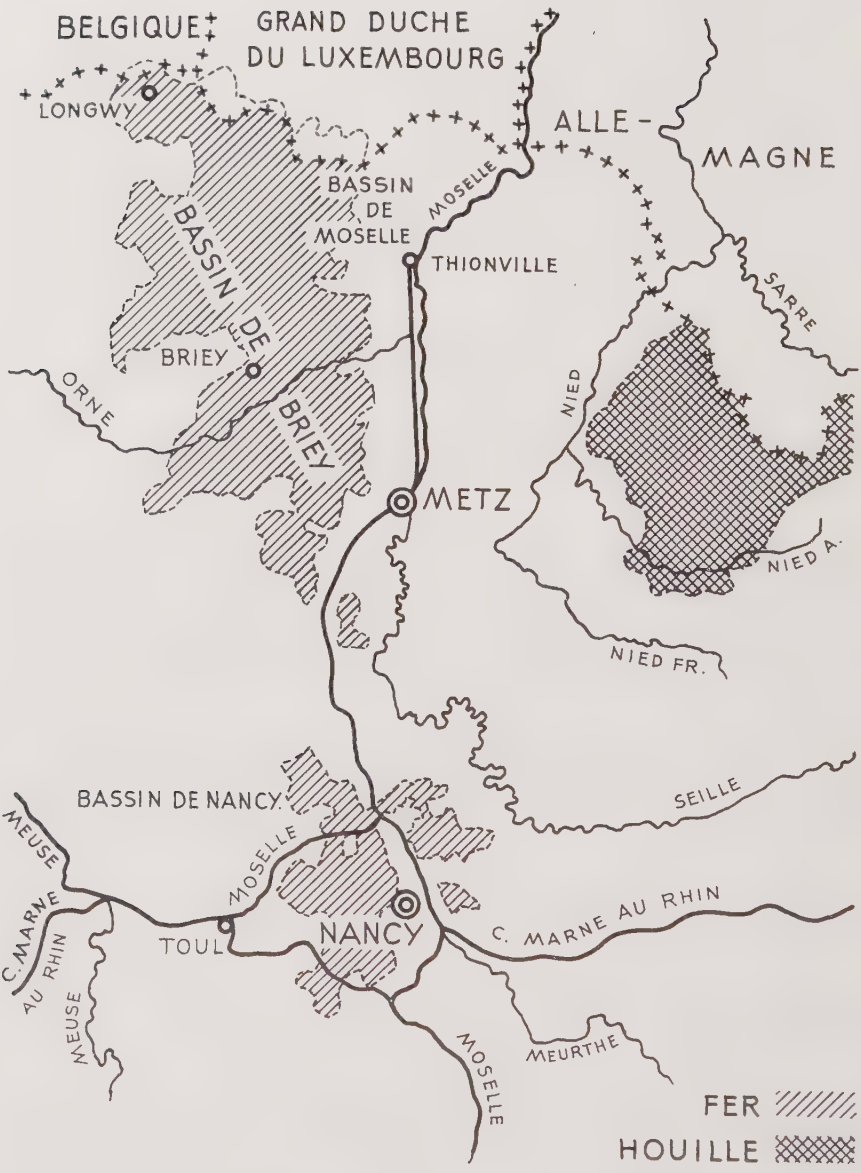

Fig. 1

Carte géographique du bassin minier lorrain.

allant de pair avec un bon état général et se manifestant seulement après 15 à 20 ans de mine. Le fer, responsable de cette affection, aurait uniquement un rôle mécanique et encombrant comme le charbon.

En 1942, Aweng, lors d'une enquête semblable dans une mine du bassin de Briey, effectua un examen radiographique chez 100 ouvriers ayant travaillé plus de 10 ans au fond. Il observa :

— dans 25 cas des images en mailles de fer;

— dans 27 cas une nodulation fine;

— dans 3 cas des opacités diffuses évoquant l'aspect pseudo-tumoral classique.

Cependant, ces opacités étaient unilatérales pour 2 cas, et une fois seulement bilatérales. L'auteur souleva à propos de ces trois observations le diagnostic de silicose compliquée de tuberculose. Dans un cas, d'ailleurs, il y aurait eu confirmation bactériologique. La tuberculose prendrait chez les mineurs de fer, comme chez tous les silicotiques, un caractère de « *gravité exceptionnelle* », mais serait rare.

Les auteurs allemands Ehrhardt et Guthert eurent l'occasion, pendant la dernière guerre, d'examiner des mineurs de fer lorrains. L'aspect radiologique serait identique à celui qu'ils ont décrit chez les travailleurs de l'ocre. Selon ces auteurs, qui s'appuient sur des données minéralogiques et sur un examen anatomo-pathologique, *il s'agirait non pas d'une sidérose, mais bien d'une silicose atypique*, relativement bénigne.

Dufourt (39) enfin, en 1944, rapporte 10 observations de sidérose chez des mineurs de fer lorrain.

Données étiologiques :

Étude géologique :

Le gisement lorrain est d'origine sédimentaire et appartient au *Lias Supérieur* (système jurassique, ère secondaire). Le minerai est disposé en plusieurs couches réparties entre une assise de grès *(Aalénien Inférieur)* au mur (banc sous-jacent au minerai) et des masses grises micacées *(Aalénien Supérieur)* au toit (Banc superposé à une couche de minerai). L'épaisseur de la formation ferrugineuse est variable selon les endroits (intercalaires stériles compris); elle atteint 60 m au maximum dans le bassin d'Ottange-Landres et oscille en général entre 20 et 50 m ailleurs. Les formations ferrugineuses se subdivisent en plusieurs couches ayant 1 à 6 m d'épaisseur, séparées par des bancs stériles du même ordre. On les distingue généralement suivant leur couleur en couche rouge, jaune, grise, brune ou verte.

Étude minéralogique :

Quand on regarde à la loupe le minerai « *minette* » on distingue de très nombreuses formations ovoïdes mesurant moins de 1 mm de diamètre; *les oolithes*. Ces formations se détachent par leur éclat métallique et leur couleur brunâtre du ciment qui les réunit. Selon Bichelonne et Angot (40) le fer existe dans les minerais lorrains à l'état

d'*hématite* (oxyde de fer), de *sidérose* (carbonate de fer), de *chlorite* (silicate de fer), de *magnétite* et il est répandu à un moindre degré dans le ciment. La silice provient surtout du quartz classique ou de la chlorite et accessoirement du quartz secondaire épigénisant la sidérose.

Particulièrement intéressant est évidemment dans l'étude des conditions étiologiques de la pneumoconiose des mineurs de fer, la connaissance de la composition du minerai. Différents travaux ont été consacrés à cette question. Heim de Balsac et Feil ont fait l'analyse chimique de deux échantillons; l'un a été prélevé dans une mine de la région de *Briey* (minerai calcaire) l'autre dans une mine de la région de *Longwy* (minerai siliceux) :

TABLEAU N° 1

Composition en %	Minerai	
	calcaire	siliceux
Fe_2O_3	39,33	60,26 (1)
CaO	12,18	1,56
SiO_2	6,73	16,32

La distinction entre minerai calcaire et siliceux est faite assez communément dans les mines. Selon Raguin (41) le minerai est calcaire s'il contient 1,4 fois plus de chaux que de silice. En fait, la distinction repose beaucoup plus, comme nous le verrons plus loin, sur des différences dans les conditions d'exploitation que sur des données minéralogiques précises.

Aweng a fait une analyse semblable d'un échantillon de minerai prélevé dans la mine de *Joeuf* et que nous rapportons dans le tableau suivant :

TABLEAU N° 2

Composants	%
Fe_2O_3	32 — 36
Al_2O_3	5
CaO	12 — 17
SiO_2	6 — 8

(1) *Ce taux étonnamment haut n'est signalé par aucun autre auteur et doit être accepté avec réserve.*

Landwehr (42) a pratiqué des couches pour l'analyse optique sur des échantillons de minerai de différentes mines de la région d'*Audun-le-Tiche*, et indique les résultats suivants :

TABLEAU N° 3

Composants	Teneur en %	
	Échantillon n° 18	Échantillon n° 30
Quartz	8,8	8,3
Feldspath	5,1	0,9
Argile	7,1	5,3
Fer	27,7	59,4
Carbonates	51,3	26,1

Turbin (43), sous l'instigation de l'IRSID (Institut de Recherches de la Sidérurgie) a dosé par voie chimique les constituants minéralogiques de 4 échantillons types de minerai de fer représentant au mieux les divers horizons du bassin lorrain et rapporte ses résultats dans un tableau :

TABLEAU N° 4

Minerai type	Constitution en %				
	Fe_2O_3	FeO	CaO	SiO_2	Quartz
Moulaine calcaire L_2 — L_2	32,15	0,75	25,30	10,20	5,55
Tucquegnieux calcaire couche grise	36,30	8,95	17,70	5,80	1,41
Mont-Saint-Martin siliceux L_5	52,05	2,70	2,40	23,40	15,25
Moulaine siliceux L_5	11,00	12,90	4,15	15,80	5,22

A la demande de la *Chambre Syndicale des Mines de Fer de l'Est*, des analyses chimiques semblables ont été faites sur des échantillons prélevés aux trous de forage par l'*École Nationale Supérieure de la Métal-*

lurgie et de l'Industrie des Mines (E.N.S.M.I.M.) de Nancy, et ont donné les résultats suivants :

TABLEAU N° 5

Origine du minerai	Teneur en %			
	Fe	CaO	SiO_2	Quartz
Valleroy Quartier C Dépilage ...	28,70	20,80	6,34	5,90 — 5,65
Valleroy Quartier D Dépilage ...	26,50	20,30	10,52	9,95 — 9,20
Tucquegnieux Quartier Landres, gal. 9	32,00	19,25	4,72	3,20 — 2,95
Tucquegnieux Pte Ouest n° 2	33,80	14,80	9,12	6,95 — 6,75

On est en droit d'estimer que ces différents prélèvements donnent une vue assez exacte de l'ensemble du bassin. Des analyses par d'autres méthodes plus sûres pour le dosage du quartz, telles que analyse thermique différentielle, diffractographie par rayons X, devraient évidemment être faites. Il n'en reste pas moins que la teneur en silice libre de la *minette* peut être considérée comme peu importante.

On pourrait s'étonner de ne pas voir mentionnées des analyses des bancs intercalaires. La raison en est que l'exploitation se fait en général dans une seule couche. Dans la vie d'une mine le creusement d'un *travers-bancs* dans ces intercalaires est exceptionnel. Voici cependant, à titre d'exemple et d'après Bichelonne et Angot, la composition de l'intercalaire situé entre les couches L4 et L5 à la mine de *Bazailles* (mine siliceuse) : épaisseur 1,12 m; teneur en fer, 19 %; teneur en silice totale, 48 %.

Selon les mêmes auteurs, la couche L5 a les caractéristiques suivantes : puissance, 4,80 m; teneur en fer, 32 %; teneur en chaux, 4 %; teneur en silice totale, 29 %.

Conditions de travail et étude de l'empoussiérage:

L'exploitation des mines de fer de Lorraine se fait dans des conditions assez particulières, dues à la nature sédimentaire du gisement : couches de grande étendue et de puissance considérable.

Le visiteur est surpris par ces galeries larges et hautes, donnant accès à des chantiers dont l'habitabilité est aussi bonne. Du fait de l'étendue de ces galeries, il se pose de difficiles problèmes d'aération, qui n'ont toujours pas reçu de solution satisfaisante.

Les travaux produisant de la poussière sont essentiellement *la foration, le tir et le chargement.*

La foration, jusqu'à ces dernières années, se faisait de façon différente suivant qu'il s'agissait d'un minerai calcaire ou d'un minerai siliceux. La cause en est la dureté beaucoup plus importante du minerai calcaire. Pour cette raison, la foration se faisait dans le premier cas au marteau-perforateur (qui frappe en tournant). L'avancement est de quelque 30 cm par minute. Des poussières extrêmement fines résultent de ce mode de travail. En minerai siliceux, la foration se fait en général avec une perforatrice (qui tourne simplement comme une vrille). Ici, l'avancement est de 1 m à 1.20 m par minute et la poussière qui en résulte est beaucoup moins fine. Elle est évacuée par simple rotation du fleuret qui est torsadé en hélice. La foration à la perforatrice est beaucoup moins pénible et l'effort de l'ouvrier est moins grand qu'en foration au marteau-perforateur.

Ces dernières années est apparu un outillage plus perfectionné, de sorte que la foration en minerai calcaire se fera désormais également à la perforatrice, avec une vitesse d'avancement de l'ordre de 1,50 m par minute, cependant qu'elle sera de 2 à 3 mètres en minerai siliceux. Ces nouveaux outils sont employés depuis trop peu de temps et sont trop peu généralisés pour qu'ils aient influencé l'état de santé des ouvriers.

Selon Heim de Balsac et Feil, le travail de foration produit peu de poussière. Cette poussière, d'autre part, du fait de sa densité qui se situe entre 2 et 3, et de son humidité, aurait peu de tendance à se répandre dans l'atmosphère. Landwehr partage la même opinion et voit dans la grande teneur en eau du minerai la cause principale de ce faible dégagement de poussière.

L'abattage du minerai se fait uniquement par explosifs. On tire presque exclusivement avec des cartouches de matières carbonées imprégnées de 0_2 liquide. Si la formation de gaz nitreux, dont la nocivité est bien connue, est ainsi évitée, les poussières et fumées produites semblent cependant assez importantes.

Le chargement à main est pratiquement abandonné depuis quelques années. Il demandait des efforts intenses et produisait une grande quantité de poussières. Le chargement mécanique en usage aujourd'hui est d'introduction trop récente pour avoir modifié sensiblement les conditions de santé des ouvriers qui font l'objet de cette étude.

Cette rapide description des conditions de travail dans les mines de fer de Lorraine, empruntée pour une large part à Dechoux, n'a pas la prétention de dégager des conclusions sur l'empoussiérage des chantiers. Une appréciation sensorielle dans ce domaine est également erronée.

Pour déterminer la nocivité d'une atmosphère, des évaluations objectives s'imposent. Ces évaluations devront être non pas tant pondérales, mais plutôt numérales. Or, de telles mesures sont extrême-

ment délicates; il faut tout d'abord disposer d'un appareil à prélèvements qui réponde au moins à deux conditions, selon CHAUMONT et QUINOT (44) : *Il doit permettre le prélèvement d'un grand volume d'air et retenir les particules fines qui sont susceptibles de pénétrer jusqu'aux alvéoles*, c'est-à-dire celles qui ont un diamètre inférieur à 5 μ. Parmi les nombreux appareils utilisés dans le monde, le *capteur à filtre soluble au tétrachloronaphtalène* mis au point par le *Laboratoire du Bouchet* sous la direction d'AVY semble particulièrement bien adapté. Pour être retenues, les mesures doivent d'autre part être très nombreuses; c'est à cette condition seulement que l'on pourra avoir une vue approximative sur les conditions d'empoussiérage. Outre les déterminations granulométriques et les numérations des particules, il faudra enfin effectuer des analyses pour préciser la nature des particules : silice, fer, etc.

Il reste à préciser à partir de quelle concentration de poussière une atmosphère doit être considérée comme dangereuse. Là les opinions diffèrent sensiblement. Selon POLICARD (45) on peut admettre les normes suivantes :

TABLEAU N° 6

Nombre de particules par cm^3	Empoussiérage
200 — 300	très faible
1 000 — 1 500	modéré
2 000 — 3 000	tolérable
4 000 — 6 000	désagréable, dangereux
6 000 — 8 000	accentué, dangereux
20 000 — 30 000	très intense, très dangereux

Aux États-Unis, le législateur a admis des chiffres différents selon les États :

TABLEAU N° 7

État	Teneur en silice libre %	Concentration admissible particules/cc
Californie	10	1 000
	10 — 50	350
	50	175
New York	10	3 500
	10	350
Oregon	10 — 20	700
	20 — 40	350
	40	175
Wisconsin	35	525

Selon Lavenne (46) on estime en Grande-Bretagne que le milieu de travail offre toute sécurité lorsque la teneur en poussières ne dépasse pas 650 particules de 1 à 2 μ par cm^3 dans les mines d'anthracite, et 850 dans des autres houillères. En fait, il s'agit là de conditions idéales et exceptionnellement réalisées.

Sous l'instigation de la *Chambre Syndicale des Mines de Fer de l'Est*, quelques mesures ont eu lieu dans trois mines calcaires du bassin de fer lorrain. Les prélèvements ont été faits au moyen de l'appareil à prélèvements à filtre soluble du Bouchet. L'E.N.S.M.I.M. de Nancy a effectué la détermination granulométrique et la numération des particules. Il est à préciser que le pouvoir séparateur du microscope utilisé est de 1 μ. Nous reproduisons les graphiques obtenus.

La figure 2 exprime les résultats des prélèvements effectués *après tir :* les graphiques 3 et 4 ceux obtenus *après foration* et le graphique 5 les valeurs obtenues *pendant le chargement mécanique.*

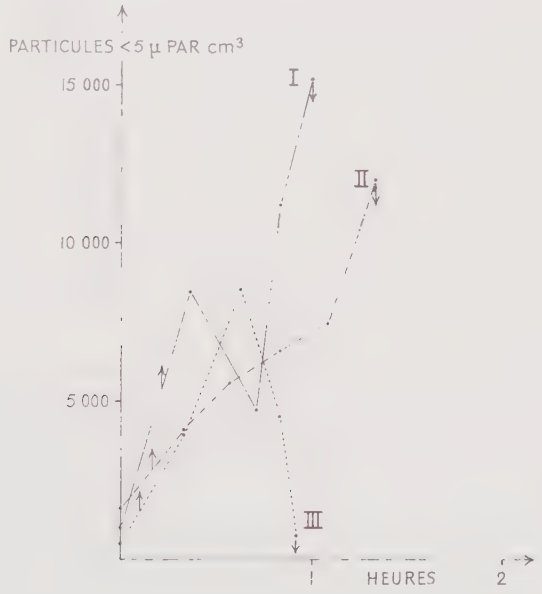

Fig. 2

Prélèvement au cours de la foration. Foration au marteau perforateur. Prélèvements effectués à 0,50 m du visage du foreur. Premier prélèvement avant tout travail, au début de la foration et à la fin de la foration.

Courbe n° 1 : Équipe de 2 mineurs. Foration de 7 coups. Mine de Tucquegnieux, couche grise. Longueur du cul-de-sac 45 m. Section 4,5 × 3,25.

Courbe n° 2 : Équipe de 1 mineur. Foration de 4 coups. Mine de Tucquegnieux, couche grise. Longueur du cul-de-sac 130 m. Section 4 × 3,25.

Courbe n° 3 : Équipe de 1 mineur. Foration de 4 coups. Mine de Valleroy, couche grise. Longueur du cul-de-sac 130 m. Section 6 × 3,5.

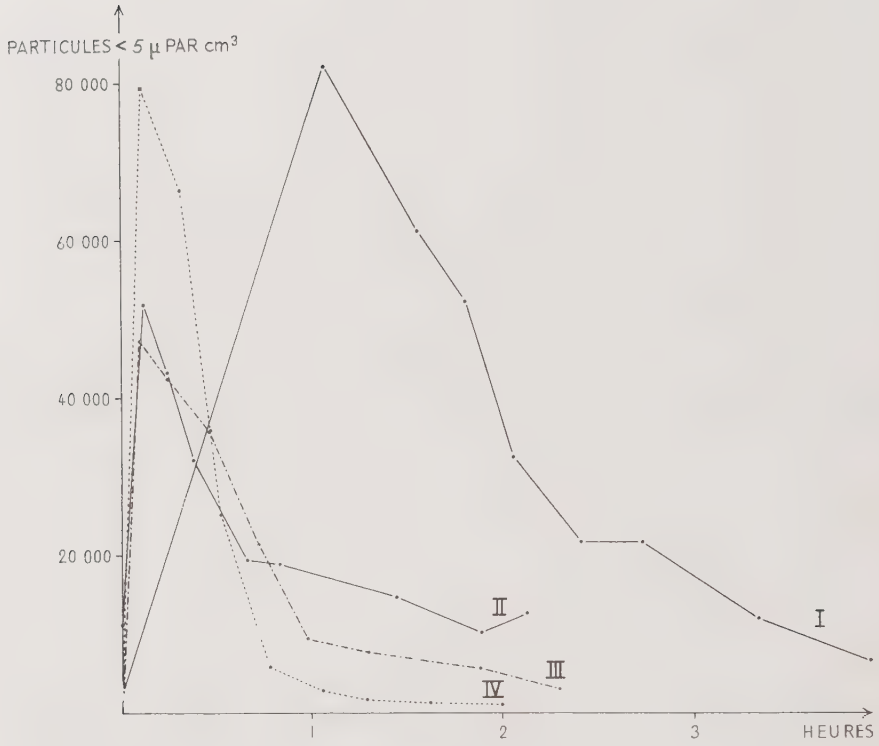

Fig. 3

Prélèvement après tir. Le temps 0 est l'instant du tir. Premier prélèvement quelques minutes avant le tir.

Courbe n° 1 : Tir d'une volée de 24 coups : Mine de Giraumont, couche rouge; traçage : longueur 90 m. Section 5 × 3. Première volée du poste.

Courbe n° 2 : Tir d'une volée de 8 coups : Mine de Tucquegnieux, couche grise. Traçage 16 m. Section 5 × 3,5. Première volée du poste.

Courbe n° 3 : Tir d'une volée de 8 coups. Mine de Tucquegnieux. Traçage longueur 35 m. section 4,5 × 3,25. Première volée du poste.

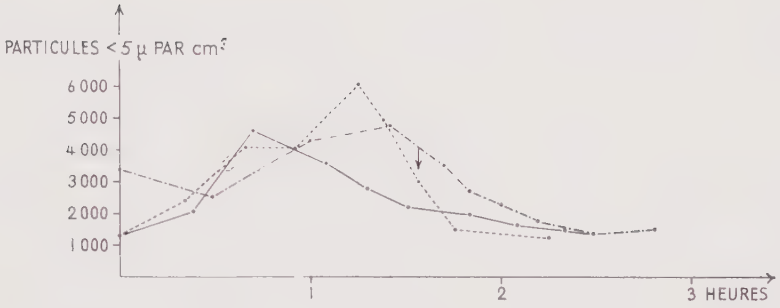

Fig. 4

Prélèvement au cours de la foration. Prélèvements effectués à 5 m en arrière du front dans l'axe de la galerie à 1 m de hauteur. Début de la foration et fin de la foration.

Courbe n° 1 : ——— Équipe de 2 mineurs, perforatrice. Foration de 24 coups. Mine de Giraumont, couche rouge.

Courbe n° 2 : _.-.-.- Équipe de 1 mineur, marteau perforateur. Foration de 4 coups. Mine deValleroy, couche grise.

Courbe n° 3 : ..... Équipe de 2 mineurs, 2 marteaux perforateurs. Foration de 8 coups. Mine de Tucquegnieux, couche grise.

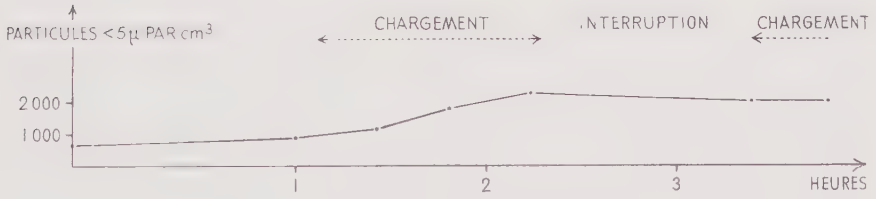

Fig. 5

Prélèvements au cours du chargement mécanique. Mine de Valleroy, couche grise. Longueur du cul-de-sac 45 m. Section 5 × 4.

Comme on s'y attendait, c'est le tir qui produit le plus de poussières avec un maximum de 80 000 particules inférieures à 5 μ par cm³. Vient ensuite la foration avec un maximum de 15 000 particules inférieures à 5 μ par cm³. Le chargement mécanique semble le moins dangereux si l'on en juge d'après cette unique expérience qui donnait 2 000 particules inférieures à 5 μ par cm³. L'air respiré par l'ouvrier pendant la foration peut être considéré comme très empoussiéré, la concentration en particules par cm³ atteint, en effet, dans les essais 1, 2 et 3 du graphique 2, respectivement 15 000, 12 000 et 8 500.

Au cours d'expériences analogues effectuées dans 51 charbonnages américains, WESTFIELD et ses collaborateurs ont constaté, en 1953, que la foration au marteau pneumatique produisait en moyenne 20 000 particules/cm³ avec des valeurs extrêmes de 1 800 et 42 500.

On ne peut cependant pas établir de comparaison entre les valeurs indiquées par ces différents auteurs puisqu'elles s'appuient sur des moyennes établies à la suite d'un grand nombre de prélèvements, alors que dans les mines de fer lorraines les mesures sont encore trop peu nombreuses. D'autre part, ces mesures traduisent des à-coups d'empoussiérage : les prélèvements ont en effet été effectués aux différents moments où l'empoussiérage était maximum, mais elles ne renseignent pas sur les conditions habituelles des chantiers. Peut-être peut-on attribuer une plus grande valeur aux prélèvements effectués à la volée du poste, avant tout travail. Les comptes rendus signalent : 700, 706, 1 175 et 1 280 particules inférieurs à 5 μ par cm³. Ces chiffres, qui peuvent être considérés comme des minima, correspondent, si l'on prend comme référence les normes données par POLICARD, à un empoussiérage modéré.

Les mineurs du bassin lorrain semblent donc respirer pendant leur séjour au fond un air tenant en suspension un minimum de 1 000 particules/cm³. Il serait intéressant de faire des prélèvements semblables dans quelques mines siliceuses du bassin. Les minerais étant moins durs, il y a tout lieu de supposer que les poussières fines y sont moins abondantes que dans les mines calcaires et à ce sujet DECHOUX mentionne que les pneumoconioses semblent plus nombreuses à *Homécourt*, mine calcaire, qu'à *Bazailles*, mine siliceuse. Dans cette dernière mine, 7,4 % des ouvriers du fond présentent des images pneumoconiotiques, alors que le taux paraît supérieur à 10 % à Homécourt. La durée d'exposition moyenne des mineurs est cependant plus longue à Homécourt (24 années) qu'à Bazailles (19,7 années), mais les conditions d'exploitation dictées par la dureté différente du minerai pourraient bien intervenir aussi.

En dehors de cette évaluation quantitative, il faudrait également tenir compte de l'analyse qualitative. Celle-ci a été pratiquée par FEIL puis par LANDWEHR et d'après ces auteurs, le taux de quartz serait de 0,2 à 0,3 %. Par conséquent la teneur en silice libre des poussières produites dans les mines de fer lorraines peut être considérée comme négligeable : le rôle essentiel dans la genèse de la pneumoconiose revient dans ce cas aux poussières inertes et tout particulièrement à l'oxyde de fer. DECHOUX conclut *que les arguments radiologiques, histologiques et minéralogiques convergent pour distinguer la pneumoconiose des mineurs de fer du bassin de Lorraine de la silicose classique* et cette opinion nous a poussé à étudier le problème immuno-pathologique de la *sidérose* en rapport avec les données déjà exposées en ce qui concerne la silicose classique.

CHAPITRE IV

RAPPORTS ENTRE LES PNEUMOCONIOSES ET LA TUBERCULOSE

Le clinicien entend par le terme « *silico-tuberculose* » toute forme d'association de silicose et de tuberculose, sans tenir compte des rapports étroits qui peuvent exister entre les deux affections. Il n'en est pas de même pour l'anatomo-pathologiste qui distingue une forme où les lésions silicotiques et tuberculeuses sont nettement distinctes et une autre où les deux types de lésions se combinent et se confondent.

Dans ce dernier cas, chaque nodule est pratiquement composé d'un tissu de granulation à la fois silicotique et tuberculeux et selon l'importance respective des parts, on parle de *tuberculo-silicose* ou de *silico-tuberculose.*

Selon la loi française la silico-tuberculose est définie comme *une affection réalisant la combinaison d'une silicose à gros grains et d'une tuberculose confirmée bactériologiquement.*

Un travail du *Centre d'Études des Pneumoconioses des Houillères du Bassin de Lorraine* s'intitule : « *Les formes radio-cliniques de la complication tuberculeuse chez les silicotiques d'un groupe du bassin de Lorraine* » et a été présenté par Ruyssen et Dechoux aux *Journées Médicales Minières de Provence* en 1952. Ces auteurs ne se limitent pas à l'étude des formes radio-cliniques de la complication tuberculeuse de la silicose, telle qu'elle est définie par les textes légaux actuels. Ils prennent également en considération tous les cas de silicose avec tuberculose, même ceux qui ne répondent pas aux conditions légales de répartition.

Selon ces auteurs, les examens radiologiques montrant une opacité étendue unilatérale apicale, limitée par une ligne scissurale et non rétractile, a une valeur considérable et demande l'institution d'un traitement spécifique, sans que l'on attende passivement l'excavation des masses et la trop tardive confirmation bactériologique. En ce qui concerne l'examen bactériologique qui doit être pratiqué avec un soin extrême, les cultures sur *milieu de Loewenstein et les inoculations au cobaye* n'ont pas paru plus probantes que la bacilloscopie, lorsque celle-ci est répétée assez souvent. Il semble donc, d'après ces auteurs, que la méthode importe moins que la persévérance.

Ruyssen et Dechoux croient pouvoir ranger sans trop de difficultés tous les cas de *silico-tuberculose* dans trois catégories, en se basant

essentiellement sur l'évolution radiologique et accessoirement sur les signes cliniques et biologiques.

Selon la conception d'autres auteurs, la tuberculose active se voit bien plus fréquemment au stade avancé de la pneumoconiose qu'au début de cette affection, et l'on présume qu'il s'agit dans la plupart des cas de réinfections. Ainsi, il faut signaler que la tuberculose prend souvent une forme nettement exsudative lorsqu'elle complique une silicose déjà établie. L'évolution est alors fort précipitée, le malade perd rapidement l'aspect du silicotique simple, *l'habitus tuberculeux* se développe; des phénomènes de septicémie ou d'infection générale apparaissent ensuite.

Reichmann a trouvé 60 % de cas de tuberculose à évolution aiguë *au troisième stade de la silicose ;* selon cet auteur, l'exitus survient rapidement sous forme d'une tuberculose miliaire généralisée. Si la tuberculose devient aiguë à un stade plus précoce, elle entraîne d'habitude une rapide progression de la pneumoconiose. Cependant, si les antécédents professionnels ne sont pas connus, la silicose peut même passer inaperçue, masquée par l'image typique de la tuberculose.

A l'opposé de cette évolution rapide, on rencontre souvent au stade avancé de la silicose une forme à évolution extrêmement chronique qui, sur le plan clinique, ne se distingue guère du tableau classique de la silicose.

Sander insiste sur ce caractère chronique de ces formes d'association et relève la tendance de la silicose à maintenir en activité les foyers tuberculeux actifs, empêchant leur guérison et entraînant une extension progressive des lésions. Di Biasi (48) rapporte que l'image est alors nettement différente de celle de la tuberculose pure: *elle se caractérise par des nodules volumineux, nettement délimités et un aspect marbré à la coupe.*

Boehme (49) croit que la tuberculose à l'état latent doit déjà exister depuis plusieurs années et se manifesterait seulement au troisième stade de la silicose. Il cite à l'appui de cette opinion que l'inoculation des crachats de ces malades au cobaye se révèle assez fréquemment positive et souvent quelques années avant la survenue des manifestations tuberculeuses.

Entre ces deux formes évolutives extrêmes existent toutes les variétés possibles d'associations au cours desquelles les phases latentes et actives peuvent alterner. Actuellement, il n'est pas encore possible, d'après Schweitzer (50), de différencier le rapport intime qui existe entre les deux affections; l'auteur est d'avis que l'on doit rechercher systématis quement la tuberculose en présence de toute silicose ainsi que son degré d'activité. Quant à la fréquence des différentes formes tuberculeuses survenant au cours de la *silico-tuberculose*, Leu (51) en se basant sur des données anatomo-pathologiques, cite dans 74 % des cas une *forme cavitaire et exsudative* et dans les autres 26 % une *forme à prédominance productive*. Parmi ces derniers, il y avait 5 % de *silicose pure* associée

à un foyer calcifié de primo-infection; 14 % montraient des cavernes et seulement 7 % étaient des processus purement productifs.

Si l'évolution de cette affection dépend, en dehors des symptômes constitutionnels et du degré de prédisposition, dans la silicose de l'action spécifique des poussières inhalées et dans la tuberculose de la virulence des germes, il en résulte, lors de l'association de ces deux maladies *une multitude de facteurs qui modifient en grande partie l'évolution de la silico-tuberculose*. En effet, la silicose simple est caractérisée par une évolution lente, chronique et ne présente que rarement un développement rapide ou par poussées, comme il est fréquent de le voir dans la tuberculose.

De cet exposé sur l'association de la silicose et de la tuberculose il ressort que cette dernière est très fréquente chez les silicotiques. Nous avons déjà relaté l'opinion ancienne (1954) selon laquelle cette association serait beaucoup plus rare dans les cas de *sidérose*. Cette opinion est encore valable aujourd'hui, puisque dans ces dernières années on a pu se rendre compte que *la tuberculose est plus rarement associée à la sidérose qu'à la silicose*. Au stade de début ou lorsque la sidérose en est l'élément prédominant, l'aspect des lésions est souvent discutable et il est difficile de trancher entre certains « *mixed dust nodules* » de Mac Laughlin (52) et certaines *formations étoilées* dues probablement à la sidérose. Fruhling (53) insistait déjà en 1955 sur ces diverses formes de la sidérose diffuse. Elle est d'identification plus délicate que la forme classique. Les lésions scléro-hyalines ne sont plus ici nodulaires, elles se réduisent à des travées. intéressent les cloisons inter-alvéolaires et affectent une disposition réticulée ou étoilée plus ou moins régulière. Au contraire, les lésions massives ne prêtent guère à discussion.

La vérification anatomique dans ces pneumoconioses n'a parfois lieu que longtemps après le décès. Le dosage chimique n'est pas toujours indispensable et l'examen histologique peut encore permettre dans ces conditions d'affirmer l'existence d'une maladie professionnelle. Dans certains cas, soumis au *Collège Nancéen*, l'autopsie a été pratiquée un an ou plus après le décès. Ainsi, Fruhling décrit un cas, où l'examen nécropsique pratiqué tardivement après la mort, a cependant permis de retrouver des nodules fibro-hyalins bien caractérisés et des lésions d'endartérite importantes.

Les discordances entre l'aspect radiologique et l'examen histologique sont actuellement bien connues: la pratique des exérèses a contribué à mieux connaître ces cas d'association sidérose + tuberculose. Nous citons un cas mentionné par Sadoul et Dusapin (54) :

B..... Albert, 45 ans, ouvrier à l'abattage du minerai de fer durant 17 ans. Dépistage radiologique systématique en février 1957. On note une opacité étendue rétroclaviculaire et juxtamédiastinale droite, dont la nature tuberculeuse est confirmée par la présence de B.K. dans les crachats. L'absence d'image micronodulaire, le caractère mal limité et non homogène

de l'opacité ne permettent guère d'évoquer le diagnostic de pneumoconiose. Un traitement par les antibiotiques pratiqué en milieu hospitalier n'entraîne que des modifications très discrètes des lésions. Lobectomie supérieure droite en juillet 1957. *L'examen anatomo-pathologique montre que des lésions tuberculeuses indiscutables sont associées à des modifications importantes de type pneumoconiotique. Le parenchyme est parcouru de trousseaux fibreux, l'architecture alvéolaire est bouleversée et il existe de volumineux nodules fibro-sidérotiques abondamment infiltrés de poussières ferriques. Le Collège de trois médecins compétents de Nancy a reconnu l'existence d'une silico-tuberculose, dont la première constatation médicale peut être fixée en février* 1957 *et propose l'attribution des prestations en nature et en espèces de l'incapacité temporaire.*

Plusieurs autres cas, soumis au Collège, sont comparables à celui-ci. L'exérèse pratiquée pour *tuberculose pulmonaire*, alors que le contexte radiologique ne faisait pas penser à *une pneumoconiose*, a permis de découvrir des lésions histologiques certaines de maladies professionnelles.

En nous basant sur ces faits, nous avons établi les statistiques qui suivent.

Depuis 1958, date de notre installation *à Briey*, jusqu'en 1962, il nous a été donné d'examiner 5 025 crachats de malades atteints de pneumopathies diverses. Pour 293 d'entre eux la recherche des *bacilles acido-alcoolo-résistants* pathogènes vrais s'est avérée positive, soit 5,83 %. Nous rapportons dans le tableau et le graphique suivants les détails de ces recherches.

TABLEAU N° 8

Année	Nombre de cas examinés	Ziehl positifs	%
1958	570	59	10,35
1959	905	62	6,85
1960	1 152	73	6,33
1961	1 141	59	5,17
1962	1 257	40	3,18

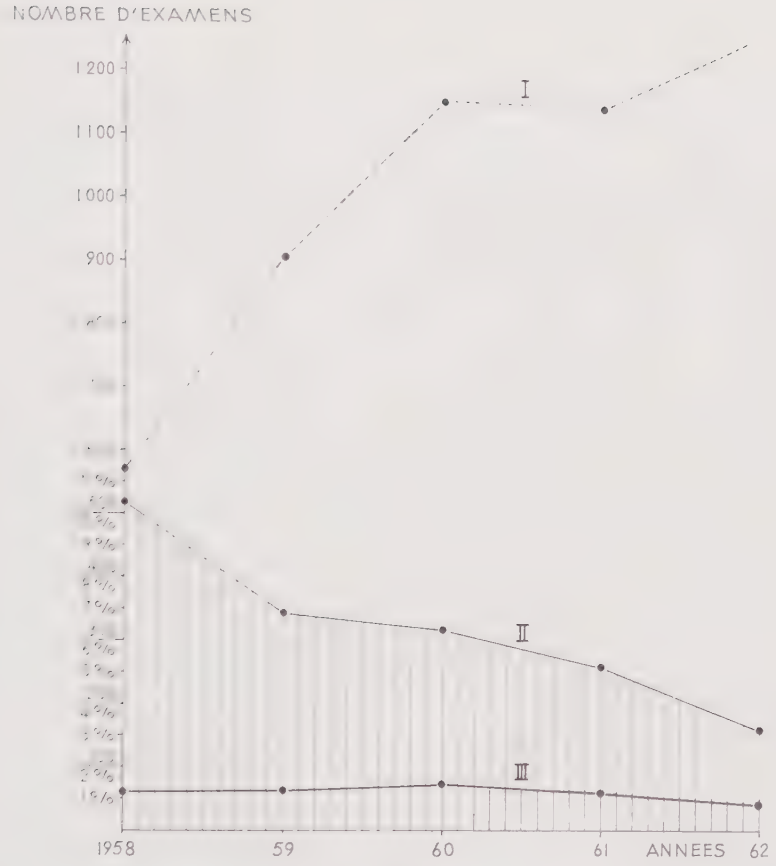

Fig. 6

Courbe n° I ..... = Nombre d'examens pratiqués.
Courbe n° II ——— = Nombre de crachats Ziehl-positifs, exprimés en %.
Courbe n° III ——— = Nombre de crachats Ziehl-positifs en valeur absolue.

Interprétation :

On voit que le pourcentage des infections tuberculeuses associées à la sidérose est relativement peu important. La diminution de ces cas au cours des 5 années de nos expériences est probablement à imputer au dépistage clinique et radiologique systématique pratiqué aujourd'hui et d'autre part aux traitements antibiotiques spécifiques qui, d'après les observations cliniques qu'il nous a été possible de consulter, sont souvent instaurés et semblent efficaces dans la plupart des cas où l'on a affaire à une infection à Bacilles de Koch, type humain vrai.

Pour donner un aperçu général de *l'association sidérose-tuberculose*, nous groupons dans le tableau N° 9 une dizaine de cas sélectionnés.

TABLEAU N° 9

Cas n°	Age	Années de fond	Dépistage		Signes radiologiques	Évolution
			de la sidérose en	des AAR en		
1 Ha.L.	53	27	1953	1961	Cavité du sommet droit	Aggravation
2 Za.J.	66	25	1554	1957	Spéléomorphie du sommet droit	Aggravation
3 Ra.J.	52	17	1949	1960	Sidérose bilatérale avec nodules confluents	Décès en 1960 (voir fig. 8 et 9)
4 Me.N.	66	25	1960	1962	Petites cavités aréolaires des deux sommets	Amélioration
5 Bi.A.	41	20	1954	1957	Opacité au sommet droit Lobectomie en 1957	Amélioration
6 Ku.M.	77	43	1951	1959	Opacité floconneuse des deux sommets	Amélioration
7 Mo.L.	35	10	1958	1960	Infiltrat excavé apex droit I.B.V. accentuée + grisailles	Amélioration
8 Ka.P.	72	24	1953	1961	Opacités non homogènes des deux sommets, mais en particulier à droite	Aggravation (voir fig. 12 et 13)
9 Be.R.	58	28	1957	1961	Micronodulations, masse excavée LSD	Stationnaire (voir fig. 10 et 11)
10 Ku.G.	54	18	1957	1961	Micronodulations, masse dense bilatérale	Décès en 1963

Interprétation :

En considérant ce tableau qui résume les résultats des observations cliniques et analytiques de l'ensemble des cas de sidérose + tuberculose qu'il nous a été donné d'examiner, on se rend compte que *l'instauration de la tuberculose est en général diagnostiquée très tardivement.* Comme SANDER et d'autres auteurs que nous avons mentionnés dans notre historique le font remarquer, l'association de la sidérose et de la tuberculose présente le plus souvent un caractère excessivement chronique; dans bien des cas on note une amélioration à la suite du traitement et la phtisie peut même guérir spontanément, d'après les constatations des chercheurs italiens, allemands et suédois, comme nous l'avons déjà vu.

A la lumière de ces constatations, on peut se demander si l'apparition tardive *du Bacille tuberculeux* dans les expectorations ne devrait pas être imputée au traitement prématuré par les antibiotiques spécifiques, thérapie souvent appliquée aux silicotiques et sidérotiques sur la base de l'examen radiologique et avant le diagnostic analytique proprement dit de la tuberculose. D'autre part il pourrait s'agir de contamination par les anciens tuberculeux ayant été traités par les antibiotiques spécifiques. On pourrait ainsi supposer que *ces traitements amènent une tuberculo-résistance d'emblée contre ces antibiotiques majeurs, soit chez les B.K. idiogènes siégeant à l'état latent dans l'organisme des mineurs, soit chez les bacilles de contagion nouvelle et récente ;* dans ce cas, les B.K. sont toujours en nombre assez restreint et facilement aptes à la mutation sur un terrain préventivement préparé par l'antibiothérapie spécifique et imprégné de molécules de fer.

Nous avons essayé d'apporter une contribution à ce problème en faisant systématiquement des contrôles de la résistance aux tuberculostatiques des bacilles A.A.R. que nous avons isolés dans notre laboratoire. Nous avons effectué ces essais sur des prélèvements provenant soit de mineurs de fer atteints de sidérose, soit de leurs épouses ou proches parents vivant en contact direct avec eux. A ce sujet, nous avons eu recours à la méthode de COLETSOS, telle que nous l'avons décrite dans le Chapitre I de ce travail.

Nous rapportons dans le tableau suivant les résultats obtenus pour un certain nombre de ces prélèvements :

TABLEAU N° 10

Malade	Streptomycine	P.A.S.	Isoniazide	Viomycine	Cyclomycétine
Mme Sch.	Sensibilité faibl. diminuée	Sensibilité normale	Résistance massive	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité diminuée
Mme Wr.	Résistance partielle	Sensibilité normale	Résistance partielle	Sensibilité normale	Sensibilité normale
Mme Hap.	Résistance partielle	Sensibilité normale	Résistance partielle	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité fort. dim.
Mme Rob.	Résistance à 80 %	Sensibilité normale	Résistance à 40 %	Sensibilité fort. dim.	Sensibilité faibl. dim.
M. Sch.	Sensibilité fort. dim.	Sensibilité faibl. dim.	Résistance massive	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité normale
M. Her.	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité normale	Résistance massive	Résistance à 40 %	Sensibilité normale
M. Zaj	Résistance à 20 %	Sensibilité faibl. dim.	Résistance massive	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité normale
M. Mar.	Sensibilité fort. dim.	Sensibilité normale	Sensibilité fort. dim.	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité normale
Mme Zaj.....	Résistance à 20 %	Sensibilité faibl. dim.	Résistance massive	Sensibilité faibl. dim.	Sensibilité normale
M. Ber.	Résistance à 40 %	Sensibilité faibl. dim.	Résistance massive	Sensibilité fort. dim.	Sensibilité normale

Interprétation :

Ces résultats démontrent le bien-fondé de notre hypothèse, selon laquelle le traitement prématuré au moyen des antibiotiques antituberculeux majeurs occasionne une résistance plus ou moins marquée *des bacilles de Koch latents ou de surinfection*. Cette résistance se manifeste surtout vis-à-vis de *la Streptomycine et de l'Isoniazide*, elle est moindre pour *la Viomycine*, alors que les B.K. présentent en général une sensibilité normale envers *le P.A.S.* et *la Cyclomycétine*. Ce fait peut s'expliquer par la prescription plus rare de ces deux antibiotiques.

L'argument principal que l'on peut retirer de ces expériences est que *la tuberculose qui se manifeste chez les sidérotiques présente le plus souvent un caractère bénin* et que l'instauration d'un traitement aux antibiotiques majeurs ne devrait se faire qu'au moment du diagnostic bactériologique de l'infection tuberculeuse.

A l'appui de notre thèse nous voudrions citer encore la conception de Lowys (55), que nous empruntons à un travail très récent, sans pour cela partager entièrement les vues de cet auteur en ce qui concerne *la chimioprophylaxie antituberculeuse.*

« *Sur le plan théorique, il paraît difficile de contester l'utilité de la chimioprophylaxie, mais en pratique des réserves sont à formuler sur sa pratique systématique. Messieurs* Brun *et* Despeignes, Vidal, Tison et *nous-même avons signalé la façon déplorable dont sont conduits certains traitements médicamenteux, et cela chez de vrais malades ; il arrive même encore aujourd'hui qu'aucune thérapeutique ne soit prescrite.* »

Il est donc permis de douter fortement d'une application toujours correcte de la chimioprophylaxie à des sujets apparemment en bonne santé, autrement dit, l'administration immédiate, à doses fortes, ininterrompues et prolongées, de P.A.S. et de I.H.N., voire même parfois de Streptomycine en plus, afin d'obtenir le blocage, puis la destruction des bacilles de Koch partout où ils se trouvent ; faute de quoi cette prophylaxie, qui en réalité doit être conduite comme une véritable thérapeutique, échouerait et pourrait même devenir dangereuse en créant des races bacillaires résistantes. De plus, la fausse sécurité qui en résulte risque de faire négliger davantage encore l'isolement du sujet contagieux. »

Après avoir constaté ces faits, nous allons dans le chapitre suivant essayer de mettre en évidence le bien-fondé de la théorie de Vigliani *concernant l'immuno-pathologie de la silicose et de la sidérose.*

CHAPITRE V

ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DE L'IMMUNO-PATHOLOGIE DE LA SILICOSE ET DE LA SIDÉROSE

Étant donné que ces deux affections évoluent pendant très longtemps sans symptômes apparents chez l'homme, nous avons essayé d'en provoquer chez le lapin, et de suivre leur pathogénie éventuelle par les modifications physiques, cliniques et immunologiques du sang circulant. Nous avons donc successivement examiné la *viscosité, la vitesse de sédimentation, le temps de coagulation, l'électrophorégramme et la formation d'anticorps, puis le comportement général, la température des animaux et les réactions allergiques.*

La viscosité:

Elle a été contrôlée par le procédé classique du viscosimètre de Hess (56).

La vitesse de sédimentation:

Elle a été mesurée par la technique classique de Westergreen (57). Nous reviendrons par la suite sur ces deux réactions physiques.

Le temps de coagulation:

Il est contrôlé par la technique décrite en détail par Gnaedinger (58) ayant recours au *thrombographe de* Hirtz. Le thrombogramme est l'enregistrement graphique et automatique de la rigidité de sang total dans les conditions expérimentales bien déterminées et très voisines de celles du sang circulant, en particulier :

— Contact du sang avec des parois non mouillables.

— Température constante de 37°.

— Sang à l'abri de l'air.

— Prélèvement de sang sans transvasement.

Ce procédé situe le début de la réaction vers la 7e-8e minute, et sa fin vers la 14e-15e minute pour le sang de lapin normal.

L'électrophorégramme:

Il est effectué par électrophorèse sur papier d'après ANTWEILER (59).

Dosage des protéines totales:

Il est pratiqué par la *méthode interférométrique* d'après ANTWEILER et contrôlé par la méthode sulfo-cuivrique.

Diagnostic différentiel des globulines:

Il est effectué au moyen de la *fiche réticulo-endothéliale de Sandor (Biolyon).*

La formation d'anticorps:

Pour doser les anticorps apparus dans le sérum des animaux traités il importait de choisir une méthode rigoureuse et spécifique. C'est pour cette raison que nous avons employé la méthode de DEAN et WEBB (60), sachant que les antigènes et les anticorps peuvent être caractérisés le plus rigoureusement « *in vitro* » par la réaction de précipitation spécifique.

La technique que nous avons utilisée est décrite en détail par VIGUIÉ (61); nous avons employé comme adjuvant la Ninhydrine à la concentration de 0,1 %. La recherche des précipitines était particulièrement indiquée dans le cadre de notre travail, où nous avions à faire à des antigènes ayant comme composants essentiels, comme nous l'avons montré, *l'oxyde de silice* ou *l'oxyde de fer.*

Pour réaliser notre programme expérimental, nous avons eu recours à deux séries de 8 lapins; les premiers 8 lapins nous ont servi pour préparer l'immun-sérum correspondant aux différents antigènes que nous nous proposions d'employer. A ce sujet, nous nous sommes procuré des prélèvements de poussières d'une mine de fer : Giraumont possédant du minerai siliceux et du minerai calcaire.

Chacun de ces prélèvements de poussières a été partagé en deux lots, que nous avons lavés à deux reprises dans le soluté physiologique pour éliminer les substances pyrogènes pouvant être éventuellement présentes: cette purification était effectuée par centrifugation à 2 000 t/mn pendant 15 minutes. Le résidu ainsi purifié a été trituré soit avec du sérum de lapin, soit avec un extrait musculaire de lapin, à raison de 10 mg de poussières pour 10 ml de substrat organique.

Nous avons eu recours à un extrait musculaire, en nous basant sur les travaux de PLATZ (62) qui a pu constater qu'une hypercoagulabilité durable du sang de lapin n'était possible que par cette intervention : On incise la peau de la cuisse, puis on prélève un lambeau musculaire d'environ 2 g, sous anesthésie locale. Après l'intervention, nous avons aseptisé la plaie et suturé la peau pour pouvoir utiliser le lapin ultérieu-

rement. Le prélèvement musculaire est soigneusement trituré en présence des poussières ferrugineuses, le tout est ensuite mis en suspension dans 6 ml de soluté physiologique, puis on centrifuge à 1 500 t mn pendant 5 minutes. On obtient ainsi une phase organique surnageante que nous avons utilisée comme antigène.

Nous injectons à chaque fois 2 lapins, à trois reprises et à quatre jours d'intervalle chaque fois, respectivement : l'antigène *silico-sérique* (S.L.S.), *silico-musculaire* (S.L.M.), *sidéro-sérique* (S.D.S.) et *sidéro-musculaire* (S.D.M.).

Dans ce groupe de huit animaux, les lapins n° 1 et 5 ont servi au prélèvement du sérum et les lapins n° 3 et 7 à celui du lambeau musculaire avec lesquels nous avons confectionné les quatre antigènes comme indiqué plus haut. Les quatre lapins ont par conséquent été vaccinés avec leurs produits organiques homologues; les lapins n° 2 - 4 - 6 - 8 ont, de leur côté, reçu le même antigène silicotique ou sidérotique associé respectivement au sérum et à l'extrait musculaire hétérologue.

Nous notons les réactions physio-pathologiques de ces 8 animaux, puis 12 jours après la dernière injection d'antigène, nous pratiquons un prélèvement de sang à la veine marginale de l'oreille pour effectuer sur l'immun-sérum ainsi obtenu les diverses analyses.

TABLEAU N° 11

Analyses	Lapin n° (homologues)			
	1 SLS	3 SLM	5 SDS	7 SDM
Température ...	normale	hyperthermie	normale	hyperthermie
Choc	néant	néant	néant	néant
Viscosité	normale	augmentée	normale	normale
VS	normale	accélérée	normale	accélérée
TC	7 — 8′	7 — 8′	14 — 15′	7 — 8′
Protéinogramme	γ-globulines augmentées	γ-globulines augmentées	normal	normal
Précipitines	anti-SLS + anti-sérum —	anti-SLM + anti-sérum —	anti-SDS — anti-sérum —	anti-SDM — anti-sérum —

TABLEAU N° 12

Analyses	Lapins n° (hétérologues)			
	2 SLS	4 SLM	6 SDS	8 SDM
Température ...	hyperthermie	hyperthermie	normale	hyperthermie
Choc	néant	+	néant	+
Viscosité	normale	augmentée	normale	normale
VS	accélérée	accélérée	normale	accélérée
TC	7′ — 8′	7′ — 8′	14′ — 15′	7′ — 8′
Protéinogramme	γ-globulines augmentées	γ-globulines augmentées	normal	γ-globulines augmentées
Précipitines	anti-SLS + anti-sérum +	anti-SLM + anti-sérum +	anti-SDS — anti-sérum +	anti-SDM — anti-sérum +

Interprétation :

En considérant le premier groupe de lapins, traités par un antigène homologue, il faut dissocier tout de suite les animaux 1 et 5, dont l'antigène renferme du sérum, des lapins n° 3 et 7 dont l'antigène contient de l'extrait musculaire. Pour les premiers, on note peu de différences dans les réactions. Au point de vue physiopathologique, le seul facteur modifié est le temps de coagulation du lapin silicotique, qui est accéléré. En ce qui concerne les réactions sérologiques, les caractères différentiels sont plus marqués entre ces deux lapins, puisque *le silicotique* a élaboré des précipitines spécifiques contre le complexe antigénique silico-sérique, alors que *le sidérotique* ne présente aucun symptôme immunologique.

Les lapins traités avec *l'antigène musculaire* présentent une viscosité différente, augmentée chez le silicotique et normale chez le sidérotique. Les caractères différentiels immunologiques sont plus marqués, puisque le lapin silicotique présente une augmentation des γ-globulines et a élaboré des anticorps anti-S.L.M., alors que le lapin sidérotique ne présente aucune anomalie sérologique dans le cadre de nos investigations.

Si nous comparons maintenant les résultats des antigènes à base de silice, respectivement additionnée au sérum et à l'extrait musculaire, *nous constatons que le complexe antigénique silico-musculaire est beaucoup plus dangereux*, puisque nous notons des altérations de tous les facteurs physiopathologiques examinés; au point de vue immunologique, par contre, il ne semble pas exister de différence.

Pour ce qui est des *antigènes sidéro-sérique et sidéro-musculaire*, les mêmes conclusions sont valables en ce qui concerne les réactions physiopathologiques et sérologiques.

Le groupe des lapins traités au moyen d'un *antigène hétérologue* nous a permis de faire les constatations suivantes : Prenons d'abord les lapins traités par *les antigènes sériques :* le lapin traité par le *complexe silico-sérique* réagit plus violemment que celui ayant reçu le *complexe sidéro-sérique*. En effet l'antigène silicotique amène une perturbation de la plupart des facteurs physiopathologiques, qui restent normaux pour le lapin S.D.S. : il en est de même pour les examens sérologiques : le lapin S.L.S. donne un protéinogramme à γ-globulines augmentées et les réactions de Dean et Webb sont positives pour les deux antigènes mis à l'épreuve, ce qui n'est pas le cas pour le lapin S.D.S. qui ne présente que des précipitines dirigées contre le sérum hétérologue.

Le groupe des lapins traités par *l'extrait musculaire*, tout en présentant moins de différences réactionnelles entre eux, ne réagissent pas d'une façon analogue à celle du groupe de l'antigène sérique: les réactions physiopathologiques sont dans l'ensemble positives et au point de vue immunologique, nous notons chez les deux animaux une augmentation des γ-globulines, mais le lapin S.D.M. n'élabore pas de précipitines anti-S.D.M., alors que le lapin S.L.M. est positif pour les deux antigènes mis en œuvre.

Si nous comparons la série des lapins traités par les *antigènes homologues* avec celle des animaux ayant reçu les *antigènes hétérologues*, nous voyons que cette dernière a été beaucoup plus éprouvée au cours du traitement immunologique, tant par les réactions physiopathologiques que par les phénomènes immunologiques où l'élaboration des deux sortes d'anticorps est beaucoup plus nette. *Remarquons cependant que les lapins traités par les complexes sidérotiques n'ont pas élaboré d'anticorps contre ces complexes, ce qui prouve qu'il y a une nette différence entre la silicose et la sidérose.*

Pour étudier ces faits, nous avons examiné les deux échantillons de poussières de minerai au point de vue chimique par le procédé classique du *microkjeldahl* après minéralisation. Nous avons procédé à l'hydrolyse aqueuse de nos suspensions antigéniques à des pH variant de 2.5 à 12.0 pendant 30 minutes à 120°. Nous avons trouvé dans le prélèvement silicotique un taux d'azote total maximal de 7,28 % ; nous avons effectué sur le produit d'hydrolyse les réactions suivantes : la réaction caractéristique de *l'azote aminé* au moyen du *β-naphtoquinone-sulfonate de sodium* d'après la technique de Folin et Wu (63) : les réactions des *polysaccharides* d'après Denigès (64) ; les réactions de *l'acide phosphorique* également d'après Denigès.

Toutes ces réactions ont été positives pour le prélèvement de minerai siliceux, tandis que pour le minerai calcaire elles n'ont été positives que pour *les polysaccharides et l'acide phosphorique. On voit ainsi que l'antigène silicotique possède tous les facteurs d'un antigène complet*

apte à élaborer des anticorps spécifiques, tandis que le complexe sidérotique ne possède que les caractères qu'on attribue classiquement aux haptènes et aux pyrogènes, ce qui confirme nos résultats immunologiques chez le lapin.

Immuno-pathologie de la silicose et de la sidérose chez les lapins tuberculeux:

Les pneumoconioses préparant, comme nous l'avons vu, le terrain à *la tuberculose*, nous avons jugé intéressant d'expérimenter leur action immuno-pathologique sur les lapins tuberculeux.

A ce sujet, nous avons eu recours à une deuxième série de huit lapins qui ont été tuberculisés par injection sous-cutanée de 0, 02 mg de B.K. *souche* 81868 *de la Collection de* HAUDUROY en suspension dans le soluté physiologique.

Trois semaines après l'injection de B.K., nous avons prélevé chez deux lapins (n^{os} 9 et 13) le sérum et chez deux autres (n^{os} 11 et 15) le lambeau musculaire pour préparer les antigènes correspondants, comme dans l'expérience précédente. Notons que ces deux derniers animaux ont bien supporté l'intervention chirurgicale. Nous donnons dans les tableaux suivants les résultats de ces investigations.

TABLEAU N° 13

Analyses	Lapins n° (homologues)			
	9 SLS	11 SLM	13 SDS	15 SDM
Température ...	39°,6	39°,9	39°,4	40°,1
Choc	néant	néant	néant	néant
Viscosité	normale	augmentée	normale	augmentée
VS	accélérée	accélérée	accélérée	accélérée
TC	7′ — 8′	7′ — 8′	14′ — 15′	7′ — 8′
Protéinogramme	γ-globulines augmentées	γ-globulines augmentées	γ-globulines augmentées	γ-globulines augmentées
Précipitines	anti-SLS + anti-sérum +	anti-SLM + anti-sérum +	anti-SDS — anti-sérum +	anti-SDM + anti-sérum +

TABLEAU N° 14

Analyses	Lapins n° (hétérologues)			
	10 SLS	12 SLM	14 SDS	16 SDM
Température ...	39°,7	Mort par choc après la deuxième piqûre vaccinale.	39°,2	40°,3
Choc	+		néant	+
Viscosité	augmentée		augmentée	augmentée
VS	accélérée		accélérée	accélérée
TC	7′ — 8′		10′ — 12′	7′ — 8′
Protéinogramme	γ-globulines augmentées		γ-globulines augmentées	γ-globulines augmentées
Précipitines	anti-SLS + anti-sérum +		anti-SDS + anti-sérum +	anti-SDM + anti-sérum +
	Mort dans les 24 heures			

Interprétation:

En ce qui concerne les lapins du premier groupe *(homologues)* notons que ceux ayant été traités par le complexe sérique (n^{os} 9 et 13) ne présentent guère de réactions différentes de celles des lapins correspondants (n^{os} 1 et 5) de la première expérience, sauf une hyperthermie et une V.S. accélérée, probablement à mettre sur le compte de l'infection tuberculeuse. D'autre part, on note l'élaboration de *précipitines antisériques* alors que dans le groupe des animaux sains les deux complexes sériques ne possédaient aucune action immunisante *(absence de précipitines)*. Ce fait est très probablement imputable à l'emploi de *sérum tuberculeux* présent dans l'antigène; *nous serions donc en présence d'une réaction spécifique pour la tuberculose et non pour les pneumoconioses.*

Le même raisonnement est valable pour les lapins n^{os} 11 et 15 traités par *le complexe musculaire*, où l'infection tuberculeuse se manifeste aussi bien dans les réactions physiopathologiques par l'augmentation de la viscosité que dans les réactions sérologiques par l'augmentation nette des γ-globulines et la formation des deux sortes de précipitines actives à la fois contre l'antigène S.L.M. et S.D.M. et contre le sérum idiogène tuberculeux.

En ce qui concerne la série des lapins traités par *les antigènes hétérologues*, nous constatons que l'emploi du *minerai siliceux associé au sérum et à l'extrait musculaire* a une action allergique très prononcée, provoquant des chocs au cours de la vaccination: *l'antigène silico-musculaire est beaucoup plus toxique que celui à base de sérum, puisque la*

mort est intervenue à la suite de la deuxième piqûre vaccinale. Le complexe silico-sérique a permis de mener à bien la vaccination, mais l'animal a succombé 24 heures après la prise de sang aux fins d'examens. L'immun-sérum qu'il nous a fourni a révélé la présence de *précipitines anti-S.L.S. et antisériques.*

En ce qui concerne les lapins nos 14 et 16 traités par *les complexes de poussières ferriques* + sérum ou extrait musculaire, les caractères différentiels sont beaucoup plus marqués par rapport aux lapins nos 6 et 8 traités de la même manière, mais *non-tuberculeux*, et ceci surtout au point de vue immunologique, puisque nous constatons la présence d'anticorps pour les deux antigènes mis à l'épreuve, ce qui n'était pas le cas dans la première série.

Nous avons ainsi pu constater une divergence immuno-pathologique nette entre la silico-tuberculose et la sidéro-tuberculose expérimentale. Dans la première nous avons pu mettre en évidence l'élaboration d'anticorps humoraux, mais surtout d'anticorps tissulaires et d'allergènes. Dans la *sidéro-tuberculose* ces phénomènes d'hypersensibilité ne se manifestent pas et le complexe antigénique *fer* + *matériaux tuberculeux* semble agir dans le sens *des adjuvants* stimulant la formation des anticorps et renforçant ainsi les moyens de défense antituberculeux.

L'influence des *facteurs adjuvants* dans l'immunisation a été mise en évidence par Ramon et ses élèves (65). Nous connaissons en effet, depuis les travaux de Landsteiner et Chase (66) l'influence favorable, sur les processus immunologiques, de produits à poids moléculaire faible, tels que *l'hydroxyde d'aluminium*, *l'alun*, etc., que ces auteurs ont associés au 2,4-*dinitro-chlorobenzène* pour la préparation d'un complexe antigénique synthétique. Dienes et Schoenheit (67) ont encore amélioré la production des anticorps en injectant le complexe antigénique synthétique dans des foyers tuberculeux. Landsteiner et Chase ont profité de cette observation et ont préparé des complexes antigéniques synthétiques additionnés directement de *bacilles tuberculeux morts ou de tuberculine.* Ces auteurs ont ainsi constaté *une hyperproduction d'anticorps humoraux ou d'anticorps allergisants*, suivant le produit chimique à faible poids moléculaire employé. Eisler et Eibl (68) ont montré que l'effet activant de produits minéraux, tels que l'hydroxyde d'aluminium, etc., provient de leur propriété absorbante amenant une augmentation micellaire de la molécule antigénique initiale (toxines, anatoxines, etc.). Freund et Dermott (69) ont poursuivi ces recherches et ont mis en évidence que *la stimulation des processus immunologiques est en rapport avec la présence de certaines substances grasses.* Au début de leurs recherches ils ont eu recours à des substances à base de lanoline ou d'huiles minérales. Les recherches avec ces produits avaient surtout trait à la vaccination de lapins contre les bactéries typhiques et dysentériques et augmentaient sensiblement le taux d'agglutinines. Ils ont ensuite obtenu des résultats encore meilleurs en associant l'antigène à des *Mycobactéries mortes ou des extraits lipoïdiques de B.K.* Actuellement, le meilleur rendement est assuré au moyen de ces substances adjuvantes

en préparant des suspensions avec *les Tweens*, isolément inactifs, mais augmentant l'effet de *bacilles tuberculeux morts* dans le complexe antigénique. Freund et Dermott ont préparé leur adjuvant de la façon suivante :

On extrait 0.2 mg de B.K. tués par l'éther ou l'acétone en présence de 0.5 ml d'huile de paraffine stérile et de 0.25 ml de lanoline stérile en suspension dans le soluté physiologique, pour obtenir une concentration de corps bacillaires de 20 %. On injecte à des lapins par voie intrapéritonéale 1 ml de cette suspension à deux ou trois reprises avec un intervalle de 2 à 3 semaines chaque fois.

En se basant sur les travaux de J. Meyer, Kesselring (70) a composé un adjuvant de formule :

Milieu de culture stérile	0,8 ml
Suspension de B.C.G. tué en soluté physiologique	0,5 ml
Huile de paraffine	0.5 ml
Tween 80	0,2 ml

Cet adjuvant leur a donné de très bons résultats chez des lapins vaccinés au moyen de *toxines staphylococciques*, qui produisaient dans ces conditions un taux notable de précipitines.

En nous référant à ces travaux, nous avons pensé que le complexe antigénique *fer matériaux tuberculeux* pouvait être considéré comme un adjuvant du même genre, mais dans ce cas il faudrait admettre la présence de substances lipoïdiques, qui ressort d'ailleurs des électrophorégrammes où nous avons pu constater une augmentation des α_2-globulines dans le sérum des lapins traités par les complexes S.D.S. et S.D.M. aussi bien homologues qu'hétérologues.

A la suite de ces constatations expérimentales, il nous a paru intéressant de doser les α_2-globulines dans le sérum de quelques malades atteints de sidéro-tuberculose.

A ce sujet, nous avons eu recours à la fiche réticulo-endothéliale de Varcues et Sandor (71) qui est, en fait, un diagramme représentatif de précipitation des *euglobulines sériques*. L'expression pratique n'englobe pas une étude complète de la floculation totale, mais une représentation graphique obtenue en mesurant la floculation entre pH = 4,6 et 7,4, en faisant varier le pH par incréments de 0,4 unités pH au moyen d'un tampon suffisamment dilué afin d'amener le sérum à une dilution de 1 40. La floculation est mesurée par opacimétrie et les différentes valeurs réunies par une courbe.

La fraction précipitant entre pH = 6,6 et 7,6 correspond aux *γ-euglobulines* : entre pH = 6,0 et 6,6 ce sont les *β-euglobulines* qui précipitent et les *α-euglobulines* précipitent à un pH inférieur à 6.0. Chez un sujet normal, le maximum de floculation est obtenu pour un pH de 5,7 à 5,8. En ce qui concerne la technique proprement dite,

nous renvoyons à Rebeyrotte (72) ainsi qu'à la fiche technique R 24 de Biolyon.

A titre d'exemple nous rapportons les résultats numériques et le graphique concernant un de nos malades :

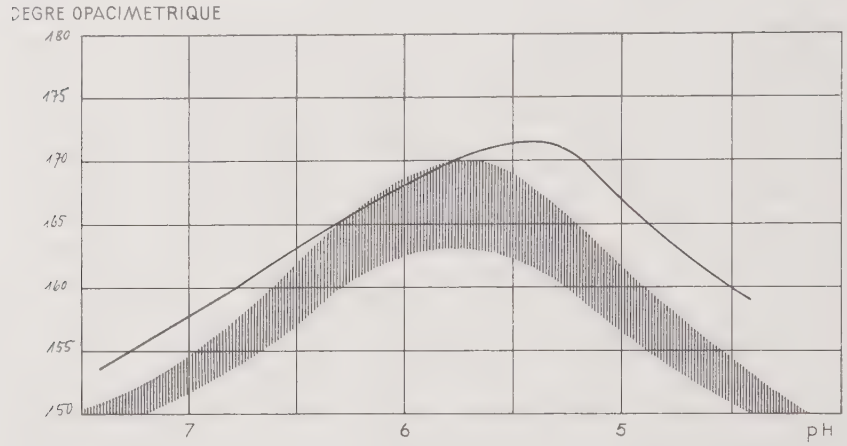

Fig. 7

Fiche réticulo-endothéliale du malade Ma.

TABLEAU N° 15

pH	Densité optique
7,4	154,0
7,0	155,5
6,6	161,5
6,3	166,5
5,9	169,0
5,5	171,5
5,2	170,5
4,9	165,5
4,6	160,5
4,3	159,0

Par rapport à la courbe normale représentée en hachuré sur la fiche, on note une nette déviation vers la zone d'acidité signifiant une *augmentation des* α_2*-globulines*. Nous avons choisi cette courbe parmi toutes

celles que nous avons faites et qui nous ont donné des résultats plus ou moins nets.

En pratiquant les lipidogrammes avec ces sangs nous avons toujours constaté une *augmentation des α-lipoprotéines* dépassant la valeur de 2,8 g 1 000. Le dosage des lipides totaux donnait également un excès (12 à 15 g 1 000). On voit ainsi que l'apport de substances lipoïdiques dans le complexe *fer + matériaux acido-alcoolo-résistants* est probablement dû à ces derniers; on peut donc supposer que cette association agit comme un adjuvant.

Ce fait peut expliquer l'évolution plutôt bénigne de la plupart des *sidéro-tuberculoses* qui souvent se caractérisent par un état de chronicité étonnant par rapport aux *silico-tuberculoses*. D'autre part, nous allons voir plus loin que dans ces *tuberculoses* on rencontre un pourcentage plus grand d'infections mixtes ou de surinfections par des *bacilles paratuberculeux atténués ou saprophytiques. Ces mycobactéries atypiques* peuvent contribuer, selon notre conception, *au renforcement de la défense immunologique anti-tuberculeuse* en stimulant la production d'anticorps spécifiques par leur effet adjuvant.

Nous pensons que le dosage des précipitines au moyen de la *réaction de Vernes à la résorcine* adaptée à cette recherche, et par la *réaction de Dean et Webb à l'antigène Boquet-Nègre* devrait apporter une preuve supplémentaire à notre théorie et probablement contribuer à poser un diagnostic différentiel entre *les silico-tuberculoses et les sidéro-tuberculoses d'une part, et d'autre part entre les tuberculoses vraies et celles à germes paratuberculeux.*

La mise au point de ces techniques reste à faire et serait d'un intérêt capital pour les expertises médico-légales.

CHAPITRE VI

LE DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DES MYCOBACTÉRIES ISOLÉES DES EXPECTORATIONS DES MINEURS DE FER DU BASSSIN DE LORRAINE

L'étude bactériologique de ces expectorations nous a semblé intéressante, à la suite d'un travail de TACQUET, VOISIN et MACQUET (73). Ces auteurs ont étudié les *mycobactéries atypiques des pneumoconioses des mineurs de charbon :* ils désignent sous ce terme des bactéries acido-résistantes de morphologie très voisine de celle du *bacille de Koch*, qui se distinguent d'après eux par quelques caractères fondamentaux des bacilles tuberculeux des mammifères habituellement rencontrés en clinique. Ainsi, en culture, ils présentent des colonies plus lisses, plus visqueuses et plus faciles à mettre en suspension dans l'eau que les bacilles tuberculeux vrais. D'autre part, ces germes sont fréquemment pigmentés, de couleur jaune ou orange. Un certain nombre est cependant dépourvu de pigment et prête encore plus à confusion avec les mycobactéries tuberculeuses vraies.

Les *mycobactéries atypiques dites photochromogènes* sont caractérisées par une culture à pigment jaune ou orangé qui peut être réactivé par exposition d'une culture jeune pendant une heure à la lumière artificielle (à 50 cm d'une lampe de 40 W), puis incubation à l'étuve pendant 24 heures. Ces germes sont incapables de déterminer, dans les conditions habituelles d'inoculation sous-cutanée, une tuberculose progressive; quelquefois on note tout au plus un abcès au point d'inoculation. Ces acido-alcoolo-résistants atypiques possèdent une résistance élevée à la Streptomycine (supérieure à 1 γ/ml), au P.A.S. (supérieure à 10 γ/ml) et à l'I.N.H. (supérieure à 1 γ/ml). La classification initiale de ces mycobactéries anonymes est due à RUMYON (74) qui en distingue trois groupes principaux, selon les caractères de pigmentation :

— groupe 1 : *photochromogène ;*
— groupe 2 : *scotochromogène* (bacilles oranges);
— groupe 3 : *non photochromogène.*

TACQUET et ses collaborateurs considèrent que cette classification essentiellement basée sur la morphologie ne satisfait le bactériologiste que par sa simplicité. Ces auteurs préfèrent une classification de BOENICKE et LISBOA (75) basée sur une distinction biochimique. *Mycobacterium tuberculosis hominis* possède une activité nicotinamidasique qui n'existe

pas chez le bacille bovin. D'autre part, il est possible de distinguer les mycobactéries atypiques d'après leur pouvoir de désamidation enzymatique des amides aromatiques et aliphatiques.

D'après les recherches de ces auteurs, le pouvoir pathogène pour l'homme des mycobactéries anonymes ne peut pas être décelé par les techniques habituelles d'inoculation à l'animal. L'étude de ce problème a amené les auteurs, non seulement à rechercher la virulence de ces mycobactéries pour des espèces animales les plus diverses inoculées par les voies les plus variées, mais surtout à envisager expérimentalement les interréactions entre l'hôte et les bactéries infectantes. Ces recherches ont permis les conclusions suivantes :

Certaines infections virales ne modifient pas le pouvoir pathogène des mycobactéries photochromogènes lorsqu'on les inocule par voie intrapéritonéale au cobaye en association avec le virus de la grippe par exemple.

La *silicose expérimentale*, par contre, est susceptible de modifier la réceptivité de l'individu à ces mycobactéries atypiques.

Il semble donc que la silice ou le fer sont susceptibles, en modifiant la réceptivité de l'hôte, d'entraîner des lésions pulmonaires de fibrose plus ou moins marquée, qui ne sont pas observées avec les minéraux seuls ou les mycobactéries seules.

Boenicke et ses collaborateurs se réfèrent, pour différencier les A.A.R. vrais ou atypiques, au pouvoir pathogène vis-à-vis des animaux de laboratoire, tels que le cobaye, la souris, le lapin, le hamster et la poule, au pouvoir chromogène des cultures, puis à certains caractères biochimiques tels que l'activité catalasique et peroxydasique, la sensibilité au Thiophène, la production d'acide nicotinique et le pouvoir nicotinamidasique. Or, nous avons actuellement des réactions différentielles beaucoup plus spécifiques et pratiques, qui permettent de séparer les bacilles tuberculeux vrais des paratuberculeux.

Nous avons eu recours, pour l'étude morphologique de la flore microbienne des expectorations des mineurs, aux méthodes de coloration suivantes :

La *coloration au Ziehl-Neelsen* classique, par décoloration à l'acide nitrique au 1/3 et à l'alcool.

La *coloration au May-Grünwald – Giemsa* pour l'examen cytologique, selon les principes exposés par A. et R. Sartory et J. Meyer (76), ceci surtout pour mettre en évidence les cellules cardiaques et les éléments cellulaires éosinophiles dans les crachats. Notons que les premières sont des cellules endothéliales pulmonaires de très grande taille, tuméfiées, vacuolisées comme des macrophages. Le protoplasme est volumineux, mal coloré en bleu lilas généralement. Le noyau est rarement mononucléé, plus souvent binucléé, coloré en rouge-brun. Ces cellules cardiaques renferment de nombreuses granulations qui remplissent toute la cellule et qui sont colorées en noirâtre, verdâtre ou violet foncé par le

May-Grünwald + Giemsa. Il s'agit donc de *cellules à poussières* ou *à pigments*, telles qu'on les trouve chez les pneumoconiotiques.

Finalement, nous avons eu recours à la méthode de coloration de GRUNBERG (77) : c'est une réaction au *Bleu de Prusse*, spécifique pour la recherche des *sidérocytes*. Pour effectuer cette coloration, il faut les réactifs suivants :

— Alcool méthylique;

— Solution chlorhydrique de ferro-cyanure de potassium : une partie d'acide chlorhydrique officinal à 25 % pour 99 parties d'eau, ajouter 1 g de ferro-cyanure de potassium.

— Solution aqueuse d'éosine à 0,1 %.

Mode opératoire :

Fixer le produit séché à l'air pendant 5 minutes dans l'alcool méthylique. Décanter et ajouter la solution chlorhydrique de ferro-cyanure de potassium, laisser agir pendant 2 à 3 minutes. Laver à l'eau distillée. Contre-colorer à l'éosine pendant 2 à 3 minutes. Laver rapidement et sécher.

Résultat :

Si la réaction est positive, on note dans une partie des hématies *(sidérocytes)* de petits grains bleus de fer.

Cette méthode se prête également à la recherche des granulations de fer dans les monocytes *(sidéromonocytes)*.

Nous donnons quelques microphotographies pour illustrer les résultats que l'on peut obtenir à l'aide de ces colorations. (Fig. 8 à 13).

En ce qui concerne la culture, nous avons employé la méthode de COLETSOS (78); d'après cet auteur, il apparaît que les bacilles réputés « *visibles et non viables* » sont en réalité des bacilles de vitalité réduite, de viabilité éphémère ou en état de quiescence. La culture en surface sur milieu usuel (Loewenstein-Jensen) est insuffisante et assez souvent impuissante à assurer leur développement. Pour y remédier, COLETSOS a mis au point un milieu à l'œuf enrichi d'oligoéléments, de pyruvates, de glutamate de sodium et d'osséine. Ce milieu de base, plus sensible que le milieu de Loewenstein-Jensen, se prête à la réalisation de trois modalités de culture :

— *en surface* (milieu de base), telle qu'elle se pratique habituellement, assurant le développement des bacilles de vitalité normale ou faiblement réduite.

— « *sous cape* » (milieu de base + osséine exsudée = B.O.) : ce procédé protège les bacilles du contact direct de l'air atmosphé-

rique à la phase initiale, il accélère la croissance des bacilles d'origine extra-pulmonaire et révèle les bacilles en état de quiescence.

— La troisième modalité est la *culture en double couche* (milieu de base ou B.O. + extrait d'organes de singe ajouté à la surface) : cette modalité favorise la croissance des bacilles profondément perturbés dans leur métabolisme, elle stimule la multiplication des bacilles quiescents et assure la réanimation des bacilles peu aptes à la biosynthèse « *in vitro* » et « *in vivo* » d'habitude considérés comme non viables.

L'auteur conclut que la révélation « *in vitro* » des bacilles quiescents, la réanimation des bacilles considérés jusqu'alors comme peu ou pas viables, la mise en évidence de leur pouvoir pathogène sur le cobaye, éclaire d'un jour nouveau certains problèmes d'ordre pathogénique et épidémiologique non encore élucidés. On comprend donc aisément pourquoi nous avons utilisé cette technique de culture. En cas de nécessité, nous avons eu recours à l'homogénéisation au moyen de la méthode de purification par le Teepol comme détergent, associé à la soude à 1 %.

En ce qui concerne la mise en évidence de la virulence des bacilles A.A.R. que nous avons pu isoler à partir des expectorations de mineurs de fer, nous avons employé les techniques éprouvées dans ces derniers temps : la réaction de Dubos, la méthode de Desbordes, le test de Wilson, Kalish et Fisch et la méthode au T.P.T.

La réaction de DUBOS:

Cette méthode est d'une exécution très simple et rapide :

1° On lave soigneusement une culture de bacilles A.A.R. à l'alcool méthylique à 50 % (2 lavages par centrifugation).

2° On met en suspension le culot de centrifugation lavé avec un tampon alcalin et une solution de rouge neutre.

Réactifs :

a) *Tampon alcalin :*

Chlorure de sodium	5,0 g
Barbiturate de sodium	1,0 g
Eau distillée	100,0 ml

b) *Solution de rouge neutre :*

Solution dans l'eau distillée à 5 %.

3° Cette solution tamponnée présente normalement une teinte *jaune*. Mise en présence du culot de centrifugation, on observe les faits suivants : *les bacilles virulents fixent le colorant en rouge* et se colorent donc également en *rouge*. Les bacilles *non-virulents* ne fixent pas le colorant et restent par conséquent légèrement jaunâtres.

Fig. 8. — Crachat Ra J. Coloration May-Grünwald + Giemsa. Gross.: 800 ×. Placard de cellules alvéolaires macrophagiques avec fond de mucus hyalin réticulé et rares cellules à granulations sidérotiques (voir fig. 9, même crachat à coloration au Bleu de Prusse).

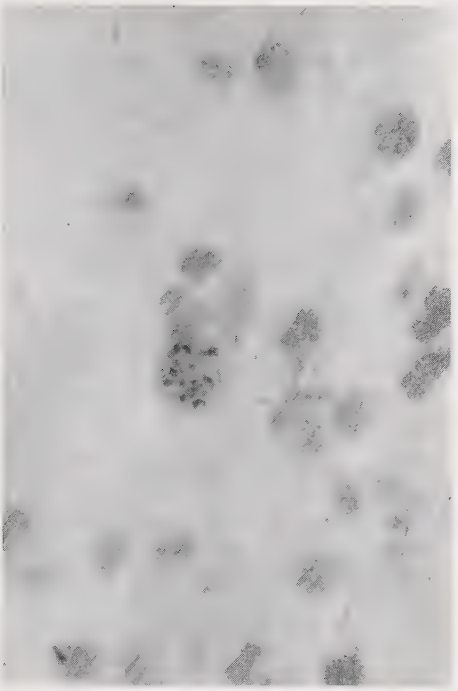

Fig. 9 — Crachat Ra J. (voir fig. 8). Coloration de Grünberg. Gross.: 1 200 ×. Dégénérescence endothéliale marquée avec une cellule cardiaque (sidérocyte).

Fig. 10 — Crachat Be R. Coloration May-Grünwald + Giemsa. Gross.: 800 ×. Placard de cellules alvéolaires macrophagiques avec dégénérescence réticulée endothéliale et nombreuses cellules cardiaques non différenciées.

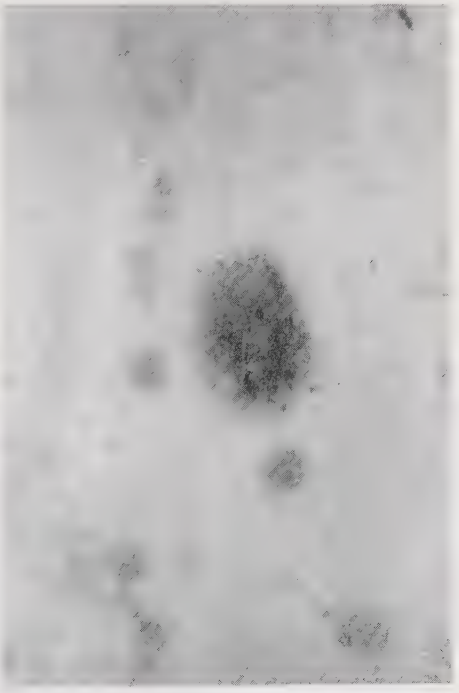

Fig. 11 — Crachat Be R (voir fig. 10). Coloration de Grünberg. Gross.: 1 200 ×. Remarquer la dégénérescence endothéliale et leucocytaire, puis une cellule cardiaque (sidérocyte).

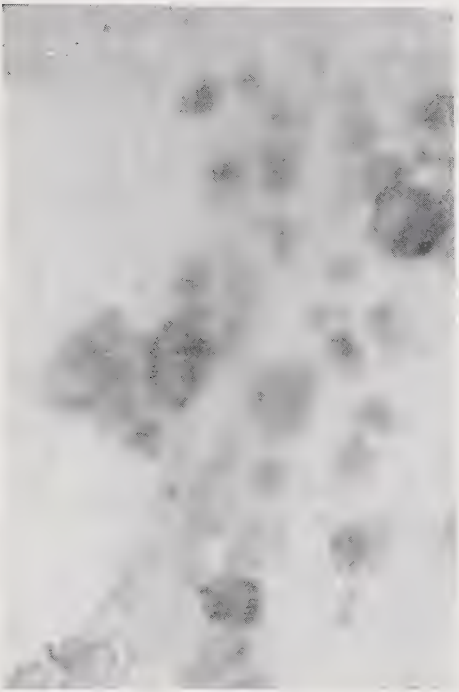

Fig. 12 — Ka F. Coloration May-Grünwald + Giemsa. Gross.: 800 ×. Réaction endothéliale-fibro-caséeuse avec cellules pulmonaires plus ou moins jeunes ou macrophagiques. Nombreuses cellules à granulations sidérotiques (voir fig. 13, même crachat à coloration de Grünberg).

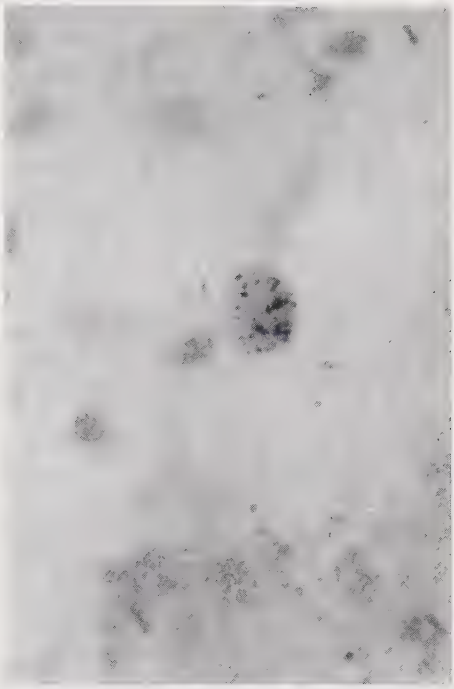

Fig. 13 — Ka F. (voir fig. 12). Coloration de Grünberg. Gross.: 800 ×. Réaction leucocytaire-endothéliale, polynucléaires à noyau pycnolique et caryolyse. Une énorme cellule cardiaque (sidérocyte).

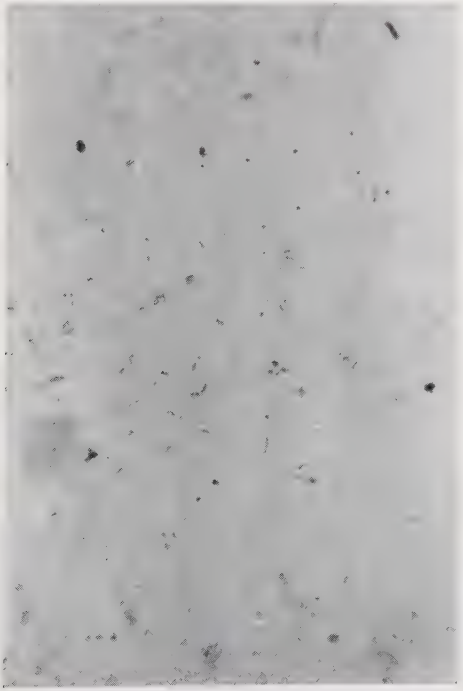

Fig. 14 — Crachat n° 28 après homogénéisation. Coloration Ziehl-Neelsen modifiée. Gross.: 1 200 ×. Bacilles de Koch: +++

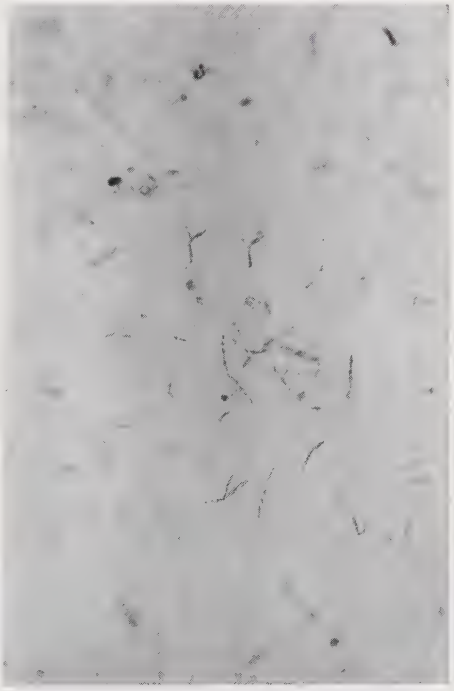

Fig. 15 — Crachat n° 29 après homogénéisation. Coloration Ziehl-Neelsen après homogénéisation. Gross.: 1 200 ×. Bacilles paratuberculeux involués: +++.

Toute la réaction doit être terminée en 20 à 30 minutes et les teintes doivent rester stables, en particulier le rouge.

Que peut-on attendre de cette réaction ? Tous les bacilles tuberculeux humains et bovins dont la virulence est incontestable sont bien colorés en rouge pourpre. Les bacilles aviaires se colorent également en rouge pourpre, mais demandent un délai de contact dépassant 30 minutes. Les bactéries les moins virulentes perdent cette coloration en 24 heures et sont dès lors colorées en jaune. Tous les bacilles paratuberculeux restent colorés en jaune dans un délai de 30 minutes et cette coloration est stable. La réaction ne semble pas dépendre du milieu dans lequel on a cultivé les germes : Loewenstein, Dubos ordinaire, Coletsos, etc.

Hauduroy a examiné des souches de bacilles tuberculeux *sensibles ou résistants à la Streptomycine :* ils se sont comportés de la même façon, ce qui prouve que la virulence et la résistance aux antibiotiques sont des réactions physiologiques indépendantes chez les bactéries.

Interprétation du phénomène:

Différentes explications ont été proposées. Desbordes et Fournier pensent que c'est un processus enzymatique qui intervient. Nous aurons l'occasion de revenir sur cette question ultérieurement.

Asselineau attribue le phénomène aux *liposaccharides* du bacille de Koch et surtout à *l'acide mycolique libre.* Le colorant serait soumis aux forces d'attraction étudiées par Bloch et par Grundland et serait donc en rapport avec le phénomène de « *Cord factor* », et par conséquent avec la tension superficielle. J. Meyer croit que c'est un phénomène de changement de pH provenant des lipases qui libèrent des acides gras responsables du virage du réactif indicateur au rouge.

On voit que ce test consiste à offrir aux germes un colorant basique placé dans la zone de demi-virage, de telle façon que s'il est adsorbé à la surface du bacille, il présentera une teinte différente que celle qu'il a en solution. C'est pour cette raison que le rouge neutre choisi par Dubos donne des résultats positifs. On sait qu'il vire au jaune à pH 8,9 et, adsorbé à la surface du bacille virulent, il vire au rouge, ce qui revient à dire que le pH endogène ou au moins de surface des bactéries A.A.R. virulentes doit être acide.

Méthode de DESBORDES:

Cette méthode est basée sur le même principe et elle emploie comme réactif indicateur le *Bleu de Nil* à pH = 11,0 qui vire dans ces conditions au *rose ;* adsorbé sur la surface du bacille virulent, il vire au *bleu franc.*

On lave les bacilles d'une culture adulte à l'aide d'alcool méthylique à 50° à deux ou trois reprises. Le culot de centrifugation du dernier lavage est mis en suspension dans 2 ml d'eau distillée à laquelle on

ajoute 0,2 ml d'une solution aqueuse saturée de carbonate de soude (pH = 10,5 à 11,0), puis 1 à 2 gouttes de *Bleu de Nil* en solution aqueuse à 100 mg/1 000. A ce pH, la solution est colorée en rouge-rose.

S'il s'agit d'un B.K. virulent, celui-ci se colore en *bleu franc* après 4 à 5 minutes, le liquide surnageant étant bleu lilas. Les couleurs s'affermissent du reste dans les minutes qui suivent (15 à 20 minutes). S'il s'agit d'un bacille avirulent ou de paratuberculeux, ils sont colorés en *rose jaune* et le liquide restera rose rougeâtre dans les mêmes délais.

Méthode de WILSON, KALISH et FISCH:

Le second groupe des tests de virulence est représenté par la *réaction au Bleu de méthylène* ou *au Bleu d'indophénol en tubes de Thunberg* [test de Bloch (1950) et test de Desbordes et Fournier (1952)], ou plus simplement le test de Wilson, Kalish et Fisch au *Bleu d'indophénol en tubes à hémolyse*, réaction d'une manipulation très simple. A une émulsion fraîche de culture de bacilles en milieu tamponné de pH = 7,0 on ajoute quelques gouttes de *Bleu d'indophénol* (dichlorophénol-indophénol) : Un germe virulent ne décolore pas cette solution, un germe avirulent la décolore d'autant plus vite qu'il est plus avirulent. Voici la technique de cette réaction :

Préparation des colorants :

Diluer 2 comprimés de *dichlorophénol-indophénol* (0,5 g) dans 100 ml d'une solution tampon quelconque de pH = 7,0. Par exemple :

Phosphate monosodique	5,99 g
Phosphate disodique	7,098 g
Eau distillée	1 000,0 ml

Émulsionner grossièrement dans un tube à centrifugation environ une öse de bacilles dans 0,30 ml de la solution colorée. Attendre environ 15 minutes avant de pratiquer la lecture en agitant de temps à autre.

Interprétation :

Dans ce laps de temps, le colorant se sera décoloré totalement s'il s'agit d'un germe saprophyte, tandis qu'il aura gardé sa coloration primitive (bleue) en cas de bacilles tuberculeux humains ou bovins virulents.

Chose curieuse, certaines souches aviaires, bien que virulentes, feront exception à la règle et provoqueront une décoloration; le B.C.G. et la *souche H 37 Ra*, pourtant non pathogènes pour l'homme, ne donneraient pas de décoloration. On pense qu'étant dérivées de souches virulentes, elles ne libèrent pas la déshydrogénase des races saprophytes, seule capable de décolorer les colorants oxydo-réducteurs.

Méthode au T.P.T.:

Partant du même principe, J. MEYER et ses élèves WINLING (79) et ROMENS (80) ont pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'action des déshydrogénases sur *les différentes mycobactéries* dans le sens du test de WILSON, en ayant recours à un réactif indicateur d'oxydo-réduction : *le 2, 3, 5-triphényltétrazolium* (T.P.T.). Ils ont d'abord jugé nécessaire de mettre en évidence l'existence de la *glucose-déshydrogénase* chez les mycobactéries. Afin de se placer dans des conditions analogues à celles de l'expérience de DESBORDES et FOURNIER, ils ont opéré de la façon suivante, en simplifiant la technique longue et délicate du « *resting-bacteria* » employée par ces auteurs. Ce terme désigne une bactérie dépourvue de son milieu nutritif, placée en soluté physiologique avec 2 % de glucose. L'absence de source d'azote empêche la prolifération = *resting-bacteria*. On mesure la consommation en oxygène par l'*appareil de Warburg :* on constate une respiration normale au détriment du glucose, mais pas de multiplication des bactéries.

Mode opératoire :

Les bactéries sont lavées à plusieurs reprises dans du soluté physiologique stérile. Elles sont ensuite mises en suspension dans ce solvant stérile à la température de 37° et on y introduit du glucose comme unique substrat nutritif. On ajoute ensuite quelques gouttes d'une solution à 1 % de T.P.T. après avoir introduit dans une gamme de tubes une suspension des bactéries A.A.R. à examiner. On a ainsi pu constater que *Mycobacterium phleï*, par exemple, se colorait en rouge au bout de quelques minutes. *Les mycobactéries pathogènes ne réduisent pas le sel de tétrazolium, on a ainsi une réaction strictement spécifique*, s'adressant à une déshydrogénase unique et permettant d'éliminer tous les facteurs supplémentaires qui, par une action d'oxydo-réduction quelconque, pourraient amener une interprétation erronée sur l'équipement enzymatique des mycobactéries qui, comme on le voit, doit différer suivant que l'on s'adresse aux germes virulents ou avirulents.

Cette réaction, comme celle de WILSON, est très intéressante car elle peut renseigner d'une part sur l'origine lointaine d'une souche inconnue (bactéries descendant d'une mycobactérie virulente, comme le B.C.G., ou, au contraire, bacilles paratuberculeux saprophytes) et elle fait d'autre part suspecter l'existence possible d'un mélange de germes dans une seule colonie examinée.

En utilisant ainsi simultanément les quatre réactions que nous venons de décrire succinctement, on peut tirer des conclusions fort intéressantes au point de vue de la pureté, de la virulence et de l'origine d'une souche, et éventuellement prouver l'existence d'un mélange de différentes mycobactéries virulentes et avirulentes dans un prélèvement pathologique.

Si l'on prend par exemple les bactéries-test suivantes : Mycobacterium phleï Moeller I, B.C.G., souche F3 de A. SARTORY, souche de B.K.

humain H 37 Rv et une souche de B.K. bovin type Vallée, on constate que le T.P.T. se colore rapidement en rouge en présence des mycobactéries saprophytes vraies ou des mélanges de différentes mycobactéries saprophytes. D'autre part, la pigmentation rouge apparaît également si l'on travaille avec un mélange de mycobactéries virulentes et d'une mycobactérie saprophyte. *Par contre, le virage fait défaut chaque fois qu'on travaille avec un mélange de mycobactéries virulentes ou issues d'une souche de bacilles virulents modifiés par adaptations successives, telle que le B.C.G. par exemple.*

Pour caractériser un mélange de mycobactéries pathogènes ou la virulence d'un bacille A.A.R. existant à l'état isolé dans un prélèvement pathologique, par exemple un crachat, on peut procéder à l'isolement des mycobactéries en employant soit la méthode des mousses au moyen de l'appareil de Dognon, soit le séparateur de germes de Hauduroy.

TABLEAU N° 16

Diagnostic différentiel	Test de				Interprétation
Catégorie :	TPT virage	Wilson virage	Desbordes	Dubos	
I	néant	positif	+++	+++	a) Mycobactérie virulente b) Association de M. virulentes c) Association de M. virulentes et atténuées
II	néant	positif	+	+	a) Mycobactérie peu virulente atténuée (BCG par exemple) b) Association de M. atténuées
III	positif	néant	+++ à +	+++ à +	Association de mycobactéries virulentes et d'un saprophyte vrai
IV	positif	néant	—	—	a) Mycobactéries saprophytes vraies (Paratuberculeux) b) Association de M. saprophytes

J. Meyer indique une méthode très simple : les expectorations sont portées à l'étuve à 37° pendant 2 jours pour réaliser la fluidification spontanée, puis on y introduit 1 million d'unités de Pénicilline et 200 γ de Tifomycine pour 10 ml de prélèvement. On agite et on dispose pendant 12 heures à la glacière. Finalement, on centrifuge et on emploie le dépôt de centrifugation que l'on met en suspension dans le soluté physiologique: on procède alors à la séparation des germes par la méthode de Hauduroy en préparant des milieux de Loewenstein, de jus de pomme de terre glycériné gélosé, et de sérum coagulé. Nous avons modifié cette technique en employant les trois milieux de Coletsos. Chaque milieu doit comporter 4 tubes ou 4 boîtes de Pétri, dont deux sont disposés à 37° et les deux autres à 25°, ceci pour obtenir la croissance différentielle des bactéries plutôt virulentes et des bactéries saprophytes qui poussent mieux à 25°.

A partir des différentes colonies isolées sur ces milieux, on pratique les quatre techniques de recherche de virulence. Nous rapportons ci-contre un tableau de J. Meyer, permettant de lire les résultats que donnent ces différentes réactions.

Interprétation :

En considérant ce tableau on se rend compte que ces différentes techniques permettent de mettre en évidence « *in vitro* » avec une certaine rigueur la virulence d'une bactérie A.A.R.. de déceler éventuellement l'origine lointaine du germe en question et, en dernier lieu, de révéler l'existence d'un mélange de germes dans un prélèvement inconnu.

J. Meyer appuie les conclusions de Hauduroy et de ses élèves qui insistent sur l'extrême importance de ces méthodes pour la classification des Mycobactériacées. On doit réserver le terme de « *Mycobactérie saprophyte* » à la catégorie bien distincte de bacilles paratuberculeux donnant des réactions cytochimiques « *in vitro* » de Dubos, Desbordes et Wilson *négatives* et de T.P.T. *positive*.

Il existe une cinquième méthode pour déterminer la virulence des germes : c'est l'étude du diagramme de diffraction des bactéries aux rayons X. Nous n'insistons cependant pas sur cette technique étant donné qu'elle nécessite l'emploi d'un appareil à rayons X émettant des rayons monochromatiques, appareil que nous ne possédons pas et que l'on trouve rarement dans un laboratoire d'analyses.

Nous n'insistons pas non plus sur une question assez importante et retenue surtout par Boenicke et Lisboa : celle de la dissociation des cultures de Mycobactériacées en formes R et S. Pour le Bacille de Koch ces formes R et S existent indubitablement, mais la question est compliquée par l'aptitude de ces bactéries à pousser sur milieu glycériné ou non. Nous savons que le B.K. humain pousse bien et facilement sur les milieux glycérinés, et les colonies sont appelées « *eugoniques* »: certaines souches poussent mal et on les appelle « *dysgoniques* ». Le B.K. humain sur jus de pomme de terre glycériné et sur milieu à l'œuf présente le plus souvent l'aspect R et eugonique.

Avec les bacilles bovins, on se trouve en présence de germes donnant des colonies *lisses et dysgoniques*. La glycérine à la concentration de 3 à 6 % *favorise* le type humain et *retarde ou inhibe* le type bovin. Le type bovin dysgonique peut se transformer en type R eugonique. On peut réaliser le très curieux phénomène de la dissociation d'une colonie en deux types R et S. Une colonie bovine peut être d'emblée R et eugonique sur un milieu à l'œuf. On peut l'avoir également dès les premières subcultures sur pomme de terre glycérinée. Le passage du type normal S vers le type R peut être progressif et apparaître après 3 ou 4 passages successifs. On peut donc obtenir une véritable dissociation d'un type S en R. En général, après la dissociation et l'isolement, la souche R se maintient indéfiniment, tant en culture qu'en passage sur l'animal. On sait que pour les bactéries ordinaires, non A.A.R., le *type S* est virulent (porteur des antigènes somatiques), le *type R* est avirulent. Pour les bacilles tuberculeux, il en est autrement : le B.K. humain est normalement R, *eugonique et virulent*, le B.K. bovin est normalement S, *dysgonique et virulent*, la bacille aviaire est normalement S, *eugonique et virulent*, mais il peut facilement se dissocier en R et S par cultures successives, sans perdre cependant sa virulence.

Nous voyons ainsi que l'aspect morphologique des colonies des bacilles A.A.R. est peu stable. La classification de Boenicke et Lisboa, adoptée par Tacquet, Voisin et Macquet prévoit les caractères suivants :

M. tuberculosis, type humain : Colonies R eugoniques.

M. tuberculosis, type bovin : Colonies S dysgoniques.

M. tuberculosis, type aviaire : Colonies S eugoniques.

M. atypiques, photochromogènes : Colonies S, parfois R, eugoniques.

M. atypiques, scoto-chromogènes : Colonies S, eugoniques ou dysgoniques.

M. atypiques, non-photochromogènes : Colonies S, eugoniques.

M. saprophytes : Colonies S avec croissance rapide.

Or, Tacquet et ses collaborateurs ont pu isoler au cours de leurs recherches trois cultures photochromogènes à colonies R, parmi sept souches photochromogènes, ce qui plaide en faveur de notre opinion sur l'inconstance et l'instabilité de l'aspect morphologique des cultures de bacilles A.A.R., se manifestant aussi bien chez les mycobactéries pathogènes vraies que chez les bacilles A.A.R. chromogènes et saprophytes.

Diagnostic précoce par inoculation au cobaye avec étude de l'allergie :

On sait que le diagnostic de la virulence d'un B.K. doit toujours être effectué par la *recherche expérimentale sur le cobaye*. Comme cette technique est très longue, on a essayé de la modifier. Le but à atteindre pour l'inoculation d'un prélèvement (crachat, etc.) est double :

1° détruire les germes associés;

2° ne pas altérer les B.K. et les conserver vivants avec toutes les qualités dues à leur équipement enzymatique spécial et allergisant.

Les techniques anciennes pour réaliser cette purification étaient basées sur l'emploi d'antiseptiques à action bactéricide plus ou moins brutale : *Vert malachite*, *Rouge Congo*, *acide sulfurique*, *lessive de soude*, etc.

On s'est cependant aperçu que l'action inhibitrice de ces produits était trop brutale et ne tuait pas uniquement la flore commensale, c'est pourquoi certains auteurs ont proposé de remplacer les antiseptiques par les antibiotiques modernes : Hauduroy a proposé les sulfamides. Tison la Pénicilline. J. Meyer a fait des études à ce sujet avec son élève Altwegg (81) et propose d'employer un *mélange de Pénicilline et de Tifomycine* pour toucher à la fois les bactéries *Gram-positives* et *Gram-négatives* sans léser la vitalité des bacilles A.A.R. Ce traitement est également important si l'on veut utiliser les prélèvements pour l'inoculation aux animaux, évitant ainsi leur exitus d'une façon prématurée par une lésion purulente et septicémique. A ce sujet, Hauduroy donne les précisions suivantes :

« *Les produits d'origine animale (mucus trachéo-bronchique, etc.) paraissent moins dangereux pour les cobayes, puisque ceux-ci meurent s'ils ne reçoivent pas de sulfamides dans la proportion de* 13 %, *alors que ce chiffre tombe à* 3 % *pour les animaux traités par les sulfamides.* »

L'inoculation se fait en général par voie sous-cutanée. On injecte sous la peau de l'autre patte 1 ml d'une solution de sulfamide contenant 0.20 à 0.30 g de produit actif. Tison montre que la Pénicilline totale, en éliminant la flore associée sans nuire aux B.K., donne une sensibilité et une rapidité plus grandes à la culture. Pour l'inoculation le produit pathologique surinfecté est neutralisé en présence de *tournesol*, on y ajoute par millilitre 100 000 unités de *Pénicilline totale* dissoute dans le soluté physiologique.

Lorsqu'on veut y associer la *Tifomycine*, on a intérêt à employer 160 à 200 γ ml de suspension. Après quelques heures de séjour à la glacière le mélange est prêt à être injecté. La quantité d'antibiotique est trop faible pour nuire à la flore symbiotique de l'animal, les bactéries commensales des expectorations sont inhibées et seul le B.K. pathogène va évoluer dans l'organisme du cobaye.

Le cobaye une fois inoculé, s'il y a présence de B.K., l'infection tuberculeuse doit se dérouler à partir du ganglion régional vers la rate, le foie et finalement les poumons. Mais cette évolution est lente et il faut attendre 5 à 6 semaines pour poser un diagnostic précis, même par ponction du ganglion inguinal. C'est pour cette raison qu'on a proposé *d'interroger l'allergie des cobayes à la Tuberculine*, ce qui permet de raccourcir sensiblement le délai de réponse au clinicien. Cette manipulation est à la portée de tous les laboratoires.

Rappelons à ce sujet que l'apparition de l'allergie tuberculinique est liée au nombre de bacilles injectés avec le produit pathologique. Une durée de 8 jours environ pour une dose de 1 γ, mais ce délai peut aller jusqu'à 30 jours si la dose n'est que de 1/1 000 de γ. En règle générale, on peut interroger l'allergie de l'animal à l'aide d'une *intradermo-réaction* au début de la 2e semaine après l'inoculation. La réaction apparaît sous forme d'une petite zone d'infiltration et d'épaississement de la peau entre 40 et 48 heures après l'injection de la tuberculine, elle augmente ensuite, formant une papule et on a intérêt à contrôler la courbe thermique qui augmente sensiblement.

Grâce à cette méthode on peut poser un diagnostic positif dans les premiers 8 à 10 jours. Naturellement, le laboratoire ne fournira au clinicien qu'une indication à ce moment, la confirmation ne pouvant être donnée qu'au bout de 3 à 4 semaines, par l'autopsie du cobaye.

Un autre point intéressant est celui de *la recherche des bacilles A.A.R. paratuberculeux grâce à l'inoculation au cobaye*. Pour isoler un bacille paratuberculeux d'un produit pathologique naturel, J. Meyer préconise la technique suivante :

Injecter le produit à deux cobayes, chez l'un en émulsion aqueuse et par voie sous-cutanée dans la région de la cuisse, chez l'autre dans le péritoine en émulsion dans 2 ml d'huile de paraffine.

Le premier cobaye réagira positivement à la tuberculine si le bacille A.A.R. est un B.K. vrai; il n'y aura aucun symptôme si c'est un paratuberculeux.

Le second cobaye meurt en 15 jours avec une hypertrophie de la rate et éventuellement du foie si c'est un paratuberculeux, et en un mois avec les lésions classiques s'il s'agit d'un véritable B.K. pathogène.

En appliquant ces principes expérimentaux à la recherche des bacilles A.A.R. typiques, atténués ou en état de quiescence, chez les mineurs atteints de *pneumopathie tuberculeuse*, nous avons pu constater les faits suivants :

Nous avons vu antérieurement que le nombre des B.K. vrais isolés par nous a progressivement diminué de 1958 à 1962. Si nous reprenons notre statistique à partir de 1960, période à laquelle nous avons eu recours aux techniques de diagnostic différentiel entre les B.K. vrais et les paratuberculeux ou bacilles A.A.R. saprophytes, nous nous trouvons devant un résultat inverse : En effet, en 1961, sur 1 141 cas examinés, 59 cas étaient dûs à des *Bacilles de Koch type humain vrais*, soit 5,17 %. D'autre part, dans 14 cas, soit 1,23%, nous avons pu caractériser la présence unique de *bacilles A.A.R. atypiques*, présentant les propriétés enzymologiques et ionométriques de la catégorie IV de la classification de J. Meyer. Nos recherches d'isolement au moyen des milieux de Coletsos et de la méthode de Hauduroy modifiée nous ont permis de séparer 32 souches de mycobactéries atypiques.

En 1962, sur 1 257 cas, 40 étaient dûs à des bacilles de Koch type humain vrais, soit 3,18 %. Dans 33 cas, soit 2,54 %, nous avons trouvé

TABLEAU N° 17

Cas N°	Nombre d'examens	Examen direct Bac. AAR trouvés	Culture		Tests de			
			chromogène	morphologie	TPT	Wilson	Desbordes	Dubos
1	2	0	photo-	S — Eu	+	—	—	—
2	4	0	photo-	S — Eu	+	—	-	
3	3	0	photo-	S — Dys	+	—	+	—
4	1	0	non-photo-	S — Dys	+	—	+	
5	2	2 × +	non-photo-	S — Eu	+	—	—	—
6	4	2 × +	scoto-	S — Eu	+	-	-	
7	2	1 × +	scoto-	S — Dys	+	+	+	—
8	3	2 × +	scoto-	S — Eu	+	—	-	
9	4	0	non-photo-	S — Eu	+	—	—	—
10	4	0	scoto-	S — Eu	+	—	—	—
11	2	0	scoto-	S — Eu	+	—	—	—
12	3	0	non-photo-	R — Eu	—	+	+	—
13	1	0	non-photo-	S — Dys	+	—	—	—
14	2	0	non-photo-	R — Eu	+	+	+	—
15	4	2 × +	photo-	R — Eu	+	—	—	—
16	4	2 × +	photo-	R — Eu	+	—	—	—
17	3	2 × +	photo-	S — Dys	+	+	+	—
18	3	0	non-photo-	S — Eu	+	—	—	—
19	4	2 × +	non-photo-	R — Dys	+	+	±	
20	1	+	photo-	R — Eu	+	—	—	—
21	3	1 × +	scoto-	S — Eu	+		-	
22	2	1 × +	scoto-	S — Dys	+	+	+	—
23	1	0	non-photo-	S — Eu	—	—	+	+

TABLEAU N° 17 (suite)

Cas N°	Nombre d'examens	Examen direct Bac. AAR trouvés	Culture		Tests de			
			chromogène	morphologie	TPT	Wilson	Desbordes	Dubos
24	3	3 \ —	non-photo-	S — Dys	+	—	—	—
25	2	1 \	photo-	R — Eu	+			—
26	1		scoto-	S — Eu	+			—
27	4	1 \ +	scoto-	S — Dys	+	+	+	—
28	3	2 \	non-photo-	S — Eu	—	—	+	+
29	1	0	non-photo-	R — Dys	+	—	—	—
30	2	0	non-photo-	S — Eu	+	—	—	—
31	3	1 \ +	photo-	R — Eu		—	—	—
32	4	1 \ +	photo-	R — Dys	+	—	+	±
33	1		non-photo-	S — Dys	+		—	—
34	2	2 \	non-photo-	S — Eu			—	—
35	2	0	non-photo-	S — Dys	+	—	—	—
36	1	0	photo-	R — Eu	+	±	±	—
37	1		photo-	S — Eu				—
38	3	2 \ +	photo-	R — Eu	+		—	—
39	4	4 \ +	scoto-	S — Eu	+	—	±	+
40	2	0	scoto-	S — Dys	+	—	—	—
41	1		non-photo-	S — Eu	+	—	—	—
42	2	2 \	non-photo-	S — Dys	—	+	+	—
43	3	2 \ +	photo-	R — Dys	+	—	+	+
44	4	0	photo-	S — Eu	+	—	—	—
45	1	0	photo-	R — Eu	+	—	—	—
46	3	3 \ +	photo-	S — Dys	+	—	—	—
47	2	0	scoto-	S — Eu	+	+	±	+

TABLEAU N° 18

Cas n°	Inoculation au cobaye				Intradermo-réaction à la tuberculine
	sous-cutanée		intrapéritonéale		
	Rate	Foie	Rate	Foie	
1	—	—	+	+	0
2					0
3	—	—	+	+	0
4	—	—	+	—	0
5	—	—	+	+	0
6	—	—	+	+	0
7					
8	—	—	+	—	0
9	—	—	+	+	0
10	—	—	+	—	0
11	—	—	+	+	0
12	—	—	+	—	±
13	—	—	+	+	0
14	—	—	—	+	0
15	—	±	—	+	0
16	—	—	+	—	0
17	—	+	+	—	0
18	—	—	—	—	0
19	+	—	+	+	± (mélange V + AV)
20	—	—	—	+	0
21	—	—	+	+	0
22	—	—	+	—	0
23	+	±	+	+	+ (mélange V + AV)

TABLEAU N° 18 (suite)

Cas n°	Inoculation au cobaye				Intradermoréaction à la tuberculine
	sous-cutanée		intrapéritonéale		
	Rate	Foie	Rate	Foie	
24	—	—	+	—	0
25	—	—	+	±	0
26	—	—	+	+	0
27	—	—	+	—	0
28	±	±	+	—	± (mélange V + AV)
29	—	—	±	+	0
30	—	—	+	—	0
31	—	—	+	—	0
32	±	—	+	+	0 (mélange V + AV)
33	—	—	+	—	0
34	—	—	+	+	0
35	—	—	—	—	0
36	—	—	+	—	0
37	—	—	+	+	0
38	—	—	+	+	0
39	—	—	—	+	0
40	—	—	+	—	0
41	—	—	+	+	0
42	±	—	+	+	+ (mélange V + AV)
43	+	—	—	—	± (mélange V + AV)
44	—	—	+	—	0
45	—	—	+	+	0
46	—	—	±	—	0
47	—	—	—	+	0

uniquement des bacilles A.A.R. atypiques, correspondant également à la catégorie IV de J. Meyer, et nous en avons isolé, selon les principes de Coletsos et de Haudroy, 28 souches de mycobactéries atypiques.

En outre, nous avons décelé en 1961, parmi les 59 cas de *tuberculose vraie*, 7 cas rentrant indubitablement dans la catégorie III de J. Meyer, et en 1962, parmi les 40 cas de tuberculose vraie, 13 cas semblables d'association de B.K. virulents et de bacilles A.A.R. saprophytes. Pour ces 20 cas, nous n'avons pas pu pousser nos investigations jusqu'au bout, et la détermination définitive des germes A.A.R. saprophytes n'a pu être réalisée.

Nous rapportons dans les tableaux n^{os} 17 et 18 l'étude des caractères morphologiques, cyto-chimiques et biologiques des 17 bacilles A.A.R. atypiques isolés en 1961 et 1962.

Interprétation :

En considérant ces résultats, nous pouvons confirmer l'opinion déjà émise, *selon laquelle le nombre des cas de tuberculoses dans le bassin de Briey à infection mixte de B.K. vrais et bacilles A.A.R. saprophytes ou à vitalité atténuée n'est pas négligeable* et leur mise en évidence augmente en rapport avec l'amélioration des techniques de culture et l'expérience pratique que le biologiste acquiert au cours de sa carrière, dans les contrées minières et les autres collectivités exposées aux risques de la contamination tuberculeuse. Ainsi, les modalités de culture et les milieux adaptés à la réanimation des mycobactéries de vitalité réduite selon les principes de Coletsos et ses collaborateurs vont contribuer largement à élucider certains problèmes d'ordre pathogénique et épidémiologique restés obscurs jusqu'à présent. Nous trouvons une explication de la résistance très fréquente des B.K. à l'I.N.H. et aux autres antibiotiques majeurs que nous avons rencontrée au cours de nos recherches : Nous savons en effet que les germes paratuberculeux et plus ou moins saprophytes sont en général peu sensibles à ces médicaments antituberculeux. D'autre part, parmi les souches « *réanimées* » par les conditions culturales de Coletsos, nous rencontrons davantage de B.K. résistant aux antibiotiques spécifiques, sans cependant pouvoir admettre que les bacilles « *réputés visibles et non-viables* » sont « *a priori* » et presque obligatoirement des *I.N.H.-résistants*. Le potentiel de vitalité et de viabilité des bacilles A.A.R. issus directement de l'organisme étant inconnu et imprévisible, l'hétérogénéité et l'hétérotrophie pour toute population bacillaire attaquée par les antibiotiques étant la règle, le mode de culture unique ne peut plus être envisagé et considéré comme suffisant. Ainsi, les conditions culturales avec leurs différentes modalités selon Coletsos et ses collaborateurs s'imposent et vont rendre de grands services dans les diagnostics et les expertises de la silicose pulmonaire en général et la sidéro-tuberculose en particulier.

Grâce à ces techniques de cultures nous avons pu isoler, au cours des années 1961 et 1962, 60 souches de mycobactéries atypiques. L'étude

biologique de la virulence de ces germes par inoculation sous-cutanée et intrapéritonéale au cobaye avec contrôle de l'allergie nous a permis de mettre en évidence au cours de ces deux années, parmi ces *tuberculoses*, 20 cas d'infections mixtes à B.K. virulents vrais et à bacilles A.A.R. paratuberculeux ou saprophytes. La combinaison des méthodes culturales et biologiques nous a d'autre part permis de diagnostiquer 47 cas de *tuberculose surinfectée par des germes A.A.R. atypiques*. Les détails concernant la morphologie, la cyto-chimie, l'enzymologie et la biologie expérimentale de ces bacilles sont résumés dans les tableaux Nos 17 et 18, d'où nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Parmi les 47 souches envisagées nous trouvons 17 bacilles *photochromogènes*, 18 *non-photochromogènes* et 12 *scoto-chromogènes*. D'autre part, nos recherches confirment l'instabilité des caractères morphologiques des bacilles A.A.R., puisque toutes ces souches ont poussé en colonies S ou R, eugoniques ou dysgoniques. Cette instabilité nous paraît encore plus grande que Tacquet et ses collaborateurs le laissaient déjà entendre.

Un autre fait qui mérite d'être souligné c'est que la culture d'après la technique de Coletsos permet d'obtenir un résultat positif là où les examens directs mêmes répétés plusieurs fois restent négatifs. *Ainsi, nous avons pu isoler des bacilles A.A.R. dans 20 cas qui sont toujours restés négatifs à l'examen direct.*

En ce qui concerne les tests cyto-chimiques, nous constatons la rigueur du test au T.P.T. qui n'était négatif que pour 4 cas sur 47 ; dans 2 de ces cas, il s'agit indubitablement d'une infection mixte à B.K. vrais et bacilles atypiques. A ce sujet, *le test de* Desbordes nous semble plus sensible que celui de Wilson et sa positivité laisse toujours suspecter la présence d'un B.K. *vrai virulent ou atténué*. La question est alors facile à trancher par le résultat des deux inoculations au cobaye et l'intradermoréaction à la Tuberculine.

L'enseignement que l'on peut tirer de nos recherches, c'est que *dans un certain nombre de tuberculoses pulmonaires, il peut s'agir d'une infection mixte de B.K. vrais et de bacilles atypiques, ou même d'une surinfection des lésions silicotiques par des germes A.A.R. commensaux*. Ce fait semble d'une très grande importance en ce qui concerne la thérapeutique et surtout les *expertises d'invalidité ;* en effet, de tels malades sont fréquemment traités comme des tuberculeux vrais et l'inefficacité du traitement est mis sur le compte de B.K. résistants. A ce sujet, nous pouvons nous ranger à l'avis de Tacquet, Voisin et Macquet, qui font ressortir que l'analyse clinique et radiologique ne permet guère d'individualiser ces infections mixtes ou ces surinfections saprophytiques des formes habituelles de la *silico-tuberculose*. « Quant à nos connaissances sur l'anatomo-pathologie de telles lésions, il faut bien avouer notre ignorance ». Si certains auteurs (Scheppers, Despierres) signalent l'absence de formation tuberculeuse ou d'éléments

épithéloïdes et giganto-cellulaires, ils ont observé un cas à aspects histologiques en tous points comparable à ceux de toute silico-tuberculose.

On voit ainsi l'intérêt d'une identification bactériologique complète des mycobactéries isolées au cours de *silicoses* et *sidéroses* compliquées. Ces observations offrent au clinicien et au bactériologiste ample matière à discussion et à recherche. Elles fournissent une occasion d'étudier les mécanismes des interactions entre l'hôte et les mycobactéries de quelque origine qu'elles soient.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Notre travail avait pour but d'étudier le rapport entre les *pneumoconioses et la tuberculose.* Étant quotidiennement en contact avec ce problème dont l'acuité est intense dans le *Bassin minier de Briey*, nous avons plus particulièrement envisagé la *sidéro-tuberculose.*

Dans la première partie de notre travail, nous avons décrit les méthodes modernes de détection de la tuberculose et les généralités sur les pneumoconioses. A ce point de vue, il nous fallait considérer ces infections selon qu'elles étaient à base de *poussières de fer contenant ou non de la silice.*

En ce qui concerne nos travaux personnels, nous avons tenu à donner un aperçu de la géographie et de la géologie *du bassin de fer lorrain ainsi que de l'étiologie de la silicose et de la sidérose.*

Nous avons essayé de déterminer les rapports entre les pneumoconioses et la tuberculose sur une base nouvelle, *l'immuno-pathologie.* Ce problème a fait le sujet de nos travaux expérimentaux sur des lapins sains et tuberculeux. Nos investigations ont eu trait à la viscosité, la vitesse de sédimentation, au temps de coagulation, à l'électrophorégramme, au dosage des protéines et au diagnostic différentiel des globulines. Ces différents facteurs devaient nous aider à élucider le problème de la *formation des anticorps;* nous avons ainsi pu constater une *divergence immuno-pathologique nette* entre la *silico-tuberculose* et la *sidéro-tuberculose expérimentale.* Dans la première, nous avons pu mettre en évidence l'élaboration d'anticorps humoraux, mais surtout d'anticorps tissulaires et d'allergènes. Dans la *sidéro-tuberculose*, ces phénomènes d'hypersensibilité ne se manifestent pas et le complexe antigénique *fer + matériaux tuberculeux* semble agir comme un adjuvant stimulant la formation des anticorps, renforçant ainsi les moyens de défense antituberculeux.

Fort de ces renseignements, nous avons essayé de mettre au point *des méthodes de diagnostic différentiel bactériologique des mycobactéries* que nous avons pu isoler des expectorations de *mineurs de fer du bassin de Lorraine.* Pour ce faire, nous avons eu recours à la méthode de culture de Coletsos, qui nous a permis de déceler des bactéries A.A.R., introuvables souvent à l'examen direct et à caractères morphologiques atypiques. L'emploi des tests spécifiques permettant d'étudier les propriétés cyto-chimiques, enzymologiques et biologiques de ces mycobactéries atypiques, à virulence atténuée et à vitalité ralentie, nous a permis de poser un diagnostic différentiel pour ces mycobactéries.

Nous avons ainsi isolé un certain nombre de *mycobactéries photochromogènes ou non-photochromogènes, ou encore scoto-chromogènes* que l'on peut considérer comme des germes saprophytes de surinfection des lésions silicotiques ou sidérotiques. Ces faits permettent d'expliquer les échecs thérapeutiques au moyen des antibiotiques antituberculeux majeurs et justifient *l'emploi des examens immuno-pathologiques* que nous préconisons.

Ces données expérimentales jointes aux constatations cliniques devraient dès à présent permettre de répondre aux *problèmes médico-légaux* soulevés par ces infections au cours des sidéroses, et il ne fait aucun doute que les sujets porteurs de *bacilles B. K. vrais* doivent bénéficier des dispositions légales accordées aux silico-tuberculeux.

BIBLIOGRAPHIE

(81) Altwegg A. — Les dermatophyties en Alsace. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg 1949.

(23) Antweiler et Hirtsch. — Arch. Gewerbepath. Gewerbehyg., 1956, 14, 678.

(59) Antweiler. — Die quantitative Elektroforese in der Medizin, 2e éd., Berlin, Heidelberg, 1957.

(12) Bernard E. et Kreis. — Bull. Acad. Méd., 1959, 143, 462.

(48) Di Biasi W. — Deutsch. Ges. Arbeitsschutz, 1935, 33-43.

(40) Bichelonne J. et Angot P. — Le bassin ferrifère de Lorraine, 1 vol., 464 pages. Comité des Forges et Mines de l'Est et Ass. Minière d'Alsace-Lorraine, 1939.

(49) Boehme A. — Beitr. Klinik Tbkl. 1934, 84, 119.

(75) Boenicke r. et Lisboa B. P. — Der Tuberkulosearzt, 1959, 6, 370.

(25) Boselli, Della Porta. — Med. Lav. 1951, 13, 236.

(27) Britton et Walsh. — Journ. Ind. Hyg. and Toxic., 1940, 22, 4, p. 125.

(35) Bruce T. — Die Silikose als Berufskrankheit in Schweden, 1 vol., Tryckerci Aktienbolaget, Thule, Stockholm, 1942.

(44) Chaumont et Quinot. — Rev. Med. Min. 1952, 5, 17, p. 36.

(21) Claeys. — Thèse Doct. Med. Lille, 1953

(24) Claeys et Quinot. — Immunopath. in Klinik und Forsch., Thieme, Stuttgart, 1961, p. 611.

(13) Coletsos P. — Ann. Biol. Clinique, 1953, N° 10-12 et Presse Médicale 1951, 82, 1772.

(78) Coletsos P. — Ann. Institut Pasteur, 1960, 99, 476.

(60) Dean et Webb. — Journ. Path. and Bact., 1926, 29, 473.

(14) Dechoux. — Arch. Maladies Profess., 1958, 3, 265.

(26) Dechoux. — La Pneumoconiose des mineurs de fer du Bassin Lorrain. Thèse Doct. Méd. Nancy, 1954.

(64) Deniges. — Précis de Chimie Analytique, 6e éd., T. 1, p. 358 et 8e éd., T. 1, p. 125.

(7) Desbordes J. — Bull. Assoc. Dipl. Microbiol. Nancy, 1955, 61, 3.

(67) Dienes et Schoenheit. — Journ. Immunol., 1930, 19, 41.

(28) Doig et Mac Laughlin. — The Lancet, 1948, 14, 789.

(5) Dubos R. J. — Amer. Journ. Med., 1950, 9, 536.

(10) Dubos et Davis. — Amer. Rev. Tuberc., 1946, 54, 204.

(39) Dufourt J. — La pneumoconiose des mineurs de fer. Thèse Doct. Méd., Nancy, 1944.

(33) Ehrhardt et Guthert. — Arbeitsmedizin, 1947, N° 25.

(68) Eisler et Eibl. — Klin. Med., Wien, 1949, 4, 441.

(32) Enzer et Sander. — Journ. Ind. Hyg. and Toxic., 1938, 20, 5, 333.

(63) Folin et Wu. — Journ. Biol. Chem., 1922. 51, 377.

(2b) Fong J., Schneider P. et Elberg S. S. — Experim. Med., 1956, 104, 455.

(69) Freund et Dermott. — Journ. Immunol., 1947, 56, 301.

(53) Fruhling L. — La silicose pulmonaire. Sympos. d'Anat. Pathol., 1955, 75, 134.

(9) Galimard J. — Les maladies et leurs tests de laboratoire. Médecine et laboratoire, Versailles, 1961.

(58) Gnaedinger E. — Un procédé de contrôle des solutés injectables. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg, 1957.

(17) Grabar et Williams. — Biochem. Biophys. Acta, 1953, 10, 193.

(77) Grunberg. — Planches hématologiques Sandoz, Bâle, 1950, p. 25.

(34) Hard et Aslett. — Spécial report Series N° 243, Med. Res. Council, London, 1942.

(38) Heim de Balsac F. et Feil A. — Hygiène Industrielle, 1936, 3, 172.

(56) Hess. — Cité par Fiesinger, Olivier et Herbain : Diagnostic biologique et fonctionnel, Maloine, 6e éd., p. 276.

(19) Ishinishi et Miyazaki. — Report of the Mitsui Med. Res. Institute for Industry, Funkore, 1957.

(70) Kesselring Ch. — Étude des propriétés des toxines staphylococciques par immuno-électrophorèse. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg, 1962.

(30) Koelsch F. — Arch. Gewerbepathol., Gewerbehyg., 1941, 10, 519.

(66) Landsteiner et Chase. — Journ. Exp. Med., 1940, 71, 237.

(42) Landwehr M. — Atlas zur Charakteristik der Silikosegefährlichkeit von Gesteinen und nutzbaren Mineralien deutscher Lagerstätten. Bergbauberufsgenossenschaft Girardet, Essen, 1955.

(46) Lavenne F. — Inst. Hyg. Mines Hasselt, 1953, 14, 5.

(8) Le Melletier J. — Médecine et Laboratoire, mai 1952.

(51) Leu H. J. — Schweiz. Ztschr. Tuberkul., 1953, 10, 447.

(22) Loiseleur. — C. R. Ac. Sciences, 1952, 234, 2316 et 2398.

(55) Lowys. — Réflexions sur la chimioprophylaxie de la tuberculose. Revue de la Tuberculose. 1962, 26, 1114.

(4) Lurie M. B. — Journ. Exp. Med., 1936, 63, 923.

(2a) Mackaness G. B. — The Growth of Tubercle Bacilli in Monocytes from Rabbits. Am. Rev. Tub. 1954, 69, 495.

(52) Mac Laughlin. — The Lancet, 1945, 1, 248, 337-341.

(18) Mottura et Levis. — Med. Lav., 1958, 48, 13.

(36) Naeslund G. — Journ. Ind. Hyg. and Toxic., 1938, 6, 435.

(1) Oprescu C. C. — Biologie Médicale, 1961, Vol. L, N° 5, p. 405.

(16) Pernis. — Med. Lav., 1956, 47, p. 73, 439, 460; 1957, 48, p. 380; 1958, 49, p. 6.

(62) Platz E. — Le temps de coagulation du sang chez le lapin. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg, 1958, p. 62.

(45) Policard A. — Traité de Médecine. — Maladies de l'appareil respiratoire. Paris, Masson, 1948, p. 634.

(20) Policard A. et Collet. — Presse Médicale, 1959, 67, 579.

(31) Pozzi N. — La maladie professionnelle des arco-soudeurs. Thèse Doct. Méd., Paris, 1938, N° 668.

(6) Raffel et Kochan. — Journ. Immunol., 1960, 84, 374.

(41) Raguin E. — Géologie des gîtes minéraux, Masson, Paris.

(65) Ramon. — C. R. Soc. Biol., 1929, 100, 887; 1931, 106, 1104.

(72) Rebeyrotte. — Médecine et Laboratoire, 1958, 72, 226.

(47) Reichmann V. — Beitrag zur Silikoseforschung, Bochum, 1949, 1, p. 1-27.

(80) Romens M. — Étude enzymatique et isolement de micro-organismes à l'aide d'un sel de Tétrazolium. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg, 1954.

(74) Rumyon. — Méd. Clin. Nord-Amér., 1959, 43, 1, 273.

(54) Sadoul et Dusapin. — L'expertise de la silicose pulmonaire, Nancy, Humblot, 1959.

(29) Sander. — Amer. Journ., and Toxic., 1944, 26, 3, 79.

(76) Sartory A., Sartory R. et Meyer J. — Microbiologie Pratique, Maloine, Paris, 1950, p. 675.

(50) Schweitzer A. — La silico-tuberculose. Thèse Doct. Méd., Strasbourg, 1956.

(3) Seibert F. B. — Journ. Immunol., 1950, 65, 297.

(73) Tacquet, Voisin et Macquet. — Le Poumon et le Cœur, 1960, 16, 215.

(43) Turbin G. — Publications de l'I.R.S.I.D., 185, rue Président-Roosewelt, St-Germain-en-Laye, 1952.

(71) Vargues et Sandor. — Annales Institut Pasteur, 1953, 84, 466.

(15) Vigliani et Pernis. — Brit. Journ. Ind. Med., 1958, 15, 8.

(61) Viguié J. J. — L'influence de l'acide pantothénique sur l'immunité antistaphylococcique. Thèse Doct. Pharm. Strasbourg, 1958, p. 11.

(57) Westergreen. — Cité par Fiesinger, Olivier et Herbain : Diagnostic Biologique et Fonctionnel, Maloine 6e éd. p. 324.

(37) Wigand R. — Zeitschr. Klin. Med., 1938, 133, 446.

(79) Winling E. — Étude biologique des Bacilles acido-alcoolo-résistants. Thèse Doct. Pharm.Strasbourg, 1953.

(11) Youmans et Karlson. — Amer. Rev. Tuberc., 1947, 55, 528.

Vu. Strasbourg, le 24 Mai 1963

Le Président du Jury,

R. SARTORY

Vu et approuvé

Strasbourg, le 28 Mai 1963

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

G. GAZET DU CHATELIER

Vu et permis d'imprimer :

Strasbourg, le 10 Juin 1963.

Le Recteur de l'Académie

Président du Conseil de l'Université,

J. F. ANGELLOZ

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION 5

PLAN DE TRAVAIL 9

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

CHAPITRE I

Les méthodes modernes de détection de la tuberculose

La recherche des bacilles tuberculeux dans les crachats 11
Les réactions cutanées à la tuberculine 14
Modifications humorales non spécifiques 15
Électrophorèse des protides 15
L'hémogramme 16
Le granulo-diagnostic de Benda et Urquia 16
Les tests de virulence 17

CHAPITRE II

Généralités sur les pneumoconioses

Les pneumoconioses dues aux poussières de fer ne contenant pas de silice.... 22
Les pneumoconioses dues aux poussières de fer contenant de la silice..... 23

DEUXIÈME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE III

Géographie et géologie du bassin de fer lorrain

Historique de l'étude de la silicose et de la sidérose dans le bassin lorrain... 27
Données étiologiques 29
Conditions de travail et étude de l'empoussiérage 32

CHAPITRE IV

Rapports entre les pneumoconioses et la tuberculose 39

CHAPITRE V

Etude expérimentale de l'immuno-pathologie de la silicose et de la sidérose

La viscosité 49
La vitesse de sédimentation..... 49
Le temps de coagulation 49
L'électrophorégramme 50
Dosage des protéines totales 50
Diagnostic différentiel des globulines 50
La formation d'anticorps 50
Immuno-pathologie de la silicose et de la sidérose chez les lapins tuberculeux 54

CHAPITRE VI

Le diagnostic bactériologique des mycobactéries isolées des expectorations des mineurs de fer du bassin de Lorraine

La réaction de Dubos 64
La méthode de Desbordes 65
La méthode de Wilson, Kalish et Fisch 66
La méthode au T.P.T. 67
Diagnostic précoce par inoculation au cobaye avec l'étude de l'allergie .. 70

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 81
BIBLIOGRAPHIE 83

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES
DE STRASBOURG

*

Dépôt légal N° 3090/1963